

le differenze sono state evidenti, e statisticamente significative nel 2009 e 2011, tra gli alberi pienamente irrigati e quelli in asciutto. In particolare, le produzioni in frutti degli alberi in asciutto sono state pari al 58 e 44% di quelle degli alberi pienamente irrigati nel 2009 e 2011, rispettivamente, mentre le produzioni in olio sono state pari al 61 e 40%, rispettivamente (Tab. 9). L'assenza di differenze significative tra i livelli irrigui nel 2010 è stata dovuta alle abbondanti precipitazioni durante il periodo estivo che hanno comportato una quasi totale assenza di differenziazione nello stato idrico degli alberi. Inoltre, le basse produzioni del 2011 sono state causate dal basso carico di frutti degli alberi, dovuto all'annata di scarica, a cui si è aggiunta la presenza di mosca delle olive a partire dalla prima decade di luglio, che ha comportato una certa cascola di frutti in fase di pre-raccolta.

Tabella 9. Produzione in frutti, efficienza produttiva, produzione di olio e numero di frutti per pianta di olivi (cv. Frantoio) sottoposti a differenti regimi irrigui nel 2009, 2010 e 2011 a Venturina (LI). I valori sono medie di quattro repliche per tesi. Lettere differenti indicano differenze minime significative ($p \leq 0.05$) calcolate mediante analisi della varianza (ANOVA).

Anno	Irrigazione	Olive per pianta [g]	Olive per pianta/TCSA [g/dm ²]	Olio per pianta [g]	Olio per pianta/TCSA [g/dm ²]	Numero di olive per pianta
2009	Piena	19389 a	10531 a	3978 a	2204 ab	7109 a
	Deficit	13187 b	9736 ab	3228 ab	2380 a	5067 ab
	Soccorso	11319 b	7396 b	2442 b	1622 b	4742 b
2010	Piena	30509	15852	4110	2117	16633
	Deficit	25253	13014	3586	1860	13990
	Soccorso	25562	13549	3407	1787	14060
2011	Piena	8070 a	3437	1960 a	841	3255
	Soccorso	3559 b	2074	792 b	465	2311

TCSA, area della sezione trasversale del fusto.

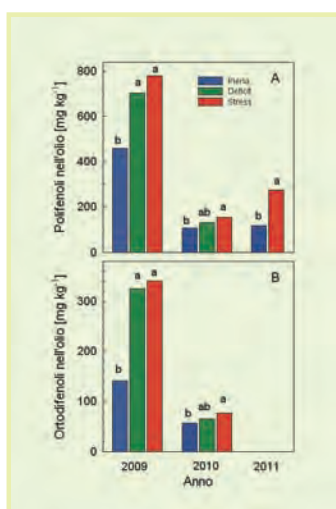


Fig. 5. Contenuto in polifenoli e ortodifenoli in oli ottenuti da olivi (cv. Frantoio) sottoposti a tre differenti regimi irrigui (pieno, deficit e soccorso) nel 2009, 2010 e 2011 a Venturina (LI). Gli istogrammi rappresentano le medie di 4 repliche per tesi. Lettere diverse indicano differenze minime significative (LSD) calcolate mediante ANOVA ($p < 0.05$).

La differenziazione dell'irrigazione in tre livelli non ha prodotto effetti sull'acidità libera, sul numero di perossidi e sulle costanti spettrofotometriche, ad eccezione del K_{270} che nel 2009 ha presentato il valore più alto negli oli della tesi in deficit e di tutte le costanti spettrofotometriche nel 2011 (Tab. 10). Gli elevati valori dei parametri merceologici degli oli prodotti nel 2011 sono stati dovuti all'elevato attacco di mosca olearia che ha comportato la presenza di un alto numero di frutti con fori d'uscita, quindi particolarmente esposti ai danni legati ai fenomeni ossidativi in fase di raccolta. Al contrario, l'effetto è stato evidente per i composti fenolici che hanno presentato valori inferiori nella tesi pienamente irrigata rispetto alle tesi irrigate in deficit al 50% o solo di soccorso. In particolare, il contenuto in polifenoli degli oli prodotti dagli alberi in asciutto è stato pari al 171%, 146% e 236% di quelli di alberi pienamente irrigati nel 2009, 2010 e 2011, rispettivamente, mentre gli oli della tesi in deficit hanno presentato valori intermedi (Fig. 5A). Lo stesso andamento si è avuto per la concentrazione in ortodifenoli. In questo caso la concentrazione in orto-difenoli negli oli ottenuti da alberi in asciutto è stato pari al 241% (2009) e 138%



(2010) di quelli misurati per il livello pienamente irrigato (Fig. 5B). Com'è evidente dalla Figura 5 il contenuto in polifenoli totali e in orto-difenoli nell'olio nel 2010 è stato fortemente condizionato dalle abbondanti precipitazioni con valori nettamente inferiori rispetto all'annata precedente. Tuttavia, è interessante notare che, seppur la differenziazione nello stato idrico dell'albero sia stata limitata a circa 20-30 giorni nel mese di agosto, i diversi trattamenti irrigui hanno comportato differenze significative per entrambi i parametri. Nel 2011, invece, le basse concentrazioni in polifenoli misurate negli oli sono state probabilmente dovute al forte attacco di mosca olearia, in accordo con quanto riportato in un lavoro condotto da Gucci et al. [11] proprio sulla varietà Frantoio.

Tabella 10. Acidità libera, numero di perossidi, K_{232} , K_{270} e ΔK di oli ottenuti da olivi (cv. Frantoio) sottoposti a differenti regimi irrigui nel 2009, 2010 e 2011 a Venturina (LI). I valori sono medie di tre (2011) o quattro (2009 e 2010) campioni di olio per tesi. Lettere differenti entro ciascun anno indicano differenze minime significative ($p \leq 0.05$) calcolate mediante analisi della varianza (ANOVA).

Anno	Irrigazione	Acidità libera [% ac. oleico]	Numero di perossidi [meq O ₂ Kg ⁻¹]	K_{232}	K_{270}	ΔK
2009	Piena	0.34	6.0	1.93	0.13 b	0.0002
	Deficit	0.34	7.2	2.00	0.16 a	0.0002
	Stress	0.31	6.7	1.88	0.15 ab	0.0003
2010	Piena	0.25	8.9	1.85	0.11	-0.003
	Deficit	0.23	9.3	1.88	0.11	-0.003
	Stress	0.22	7.7	1.79	0.10	-0.003
2011	Piena	0.48	17.1	1.90 b	0.08 b	0.0005 a
	Stress	0.37	17.8	2.18 a	0.12 a	-0.0018 b

Provincia di Campobasso

Gli effetti dell'irrigazione sullo sviluppo del frutto e sulle sue caratteristiche alla raccolta sono state modeste nel 2010, a causa delle abbondanti precipitazioni, mentre nel 2011 la differenziazione dello stato idrico degli alberi per i due livelli irrigui ha comportato evidenti differenze dovute all'irrigazione. Gli alberi irrigati secondo il protocollo "Basso" nel 2010 hanno mostrato, nei rilievi di accrescimento del frutto, valori di peso medio simili a quelli di piante irrigate abbondantemente (Tab. 11). Anche i dati misurati alla raccolta non hanno presentato, per nessuna delle varietà oggetto di studio, differenze in merito al peso fresco del frutto, mentre i maggiori valori dell'indice di maturazione sono stati riscontrati, per la cv. Gentile di Larino e Peranzana, nei frutti di alberi irrigati con minor volumi irrigui (Fig. 6). Le differenze riscontrate in merito al contenuto in olio nel mesocarpo, sono difficilmente ascrivibili ad un effetto del regime irriguo utilizzato (Fig. 6E, F). Al contrario, nel 2011 i volumi irrigui più abbondanti hanno comportato un maggior peso medio del frutto, un significativo ritardo nella maturazione dei frutti e un aumento del contenuto in olio nella polpa.

Come per la provincia di Brescia e di Livorno anche gli oli prodotti ad Ururi (CB) hanno presentato valori inferiori ai limiti stabiliti per la classificazione merceologica dell'olio extra-vergine di oliva e simili per i due livelli irrigui (Tab. 12). Per quanto riguarda i risultati relativi alla differenziazione dell'irrigazione è necessario premettere che in questo caso essi hanno un valore

Tabella 11. Peso medio del frutto di olivi di diverse cultivar a Ururi (CB) nel 2010 e 2011. Il peso medio del frutto è ottenuto dal peso di 50 frutti per ciascun trattamento irriguo.

Cultivar	Livello irriguo	Peso medio del frutto [g]		
		28.07.10	07.09.10	17.11.10
Gentile di Larino	Alto	1.22	1.72	3.22
Gentile di Larino	Basso	1.20	1.96	3.14
Peranzana	Alto	1.34	2.54	4.20
Peranzana	Basso	1.36	2.60	4.14
Nocellara del Belice	Alto	2.96	4.72	6.20
Nocellara del Belice	Basso	2.94	3.84	6.10
Frantoio	Alto	1.24	2.12	3.14
Frantoio	Basso	1.22	2.14	N.D.
		28.07.11	06.10.11	
Gentile di Larino	Alto	1.14	2.18	
Gentile di Larino	Basso	1.12	1.98	
Peranzana	Alto	1.42	2.03	
Peranzana	Basso	1.42	1.91	
Nocellara del Belice	Alto	2.28	3.89	
Nocellara del Belice	Basso	2.50	2.34	
Frantoio	Alto	1.28	2.50	
Frantoio	Basso	1.38	2.12	

N.D., non disponibile.

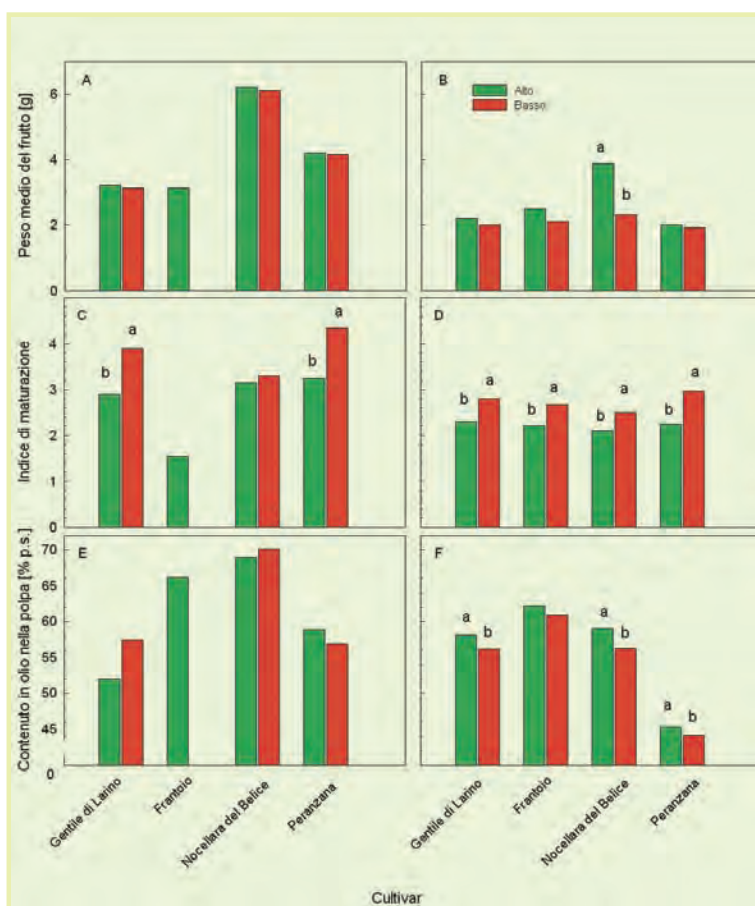


Fig. 6. Peso medio del frutto, indice di maturazione e contenuto in olio nel mesocarpo in olivi di diverse cultivar a Larino (CB) sottoposti a due differenti regimi irrigui (Alto, consuetudine aziendale; Basso, volumi irrigui inferiori rispetto alla consuetudine aziendale) nel 2010 (A, C, E) e 2011 (B, D, F). Gli istogrammi rappresentano le medie di 3 repliche per tesi. Lettere diverse indicano differenze minime significative (LSD) calcolate mediante ANOVA ($p < 0.05$).



puramente indicativo in quanto è stato possibile utilizzare un solo campione per ciascun livello irriguo. Premesso ciò, è possibile notare come, anche in questo caso, gli oli prodotti dagli alberi irrigati seguendo il protocollo sperimentale (volumi irrigui pari a circa il 50% rispetto all'irrigazione aziendale) abbiano presentato una maggiore concentrazione in polifenoli totali (Fig. 7).

Provincia di Lecce

Lo sviluppo dei frutti durante il periodo estivo è stato simile per entrambi i livelli irrigui (Tab. 13). Anche alla raccolta le differenze tra i frutti degli alberi irrigati con maggiori volumi irrigui o secondo un regime irriguo "Basso" hanno mostrato valori di peso medio e indice di maturazione del frutto simili. Invece, l'aumento del contenuto in olio nel frutto nel livello "Alto" è stato evidente per tutte le varietà prese in esame, con differenze comprese tra il 13% e il 33% rispetto a quello "Basso" (Fig. 8).

I risultati relativi alla qualità dell'olio hanno confermato l'effetto che l'irrigazione esercita sul contenuto in composti fenolici dell'olio, mentre i parametri qualitativi per la classificazione merceologica non sembrano risentire del regime irriguo (Fig. 9, Tab. 14). In tutti i confronti effettuati, un minore apporto di acqua agli olivi ha determinato un aumento del contenuto in composti fenolici rispetto agli alberi irrigati maggiormente nelle cultivar Coratina, Ogliarola Salentina e Cellina di Nardò pari al 29, 30 e 47%, rispettivamente. I valori riscontrati sono anche coerenti con le caratteristiche varietali, con contenuti più elevati nella cv. Coratina e più bassi nella Cellina di Nardò.

Tabella 12. Acidità libera, numero di perossidi, K_{232} , K_{270} e ΔK di oli ottenuti da olivi sottoposti a differenti regimi irrigui nel 2010 e 2011 a Ururi (CB). I valori si riferiscono ad un unico campione di olio per tesi irrigua.

Anno	Cultivar	Livello irriguo	Acidità libera [% ac. oleico]	Numero di perossidi [meq Kg ⁻¹]	K_{232}	K_{270}	ΔK
2010	Gentile L.	Alto	0.24	9.8	1.82	0.11	-0.003
	Gentile L.	Basso	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
	Frantoio	Alto	0.24	6.2	1.65	0.10	-0.002
	Frantoio	Basso	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
	Nocellara B.	Alto	0.25	7.7	1.83	0.08	0.002
	Nocellara B.	Basso	0.29	7.0	1.79	0.08	0.001
	Peranzana	Alto	0.28	7.8	1.93	0.12	0.001
	Peranzana	Basso	0.25	12.9	1.93	0.13	0.002
2011	Gentile L.	Alto	0.25	5.9	1.80	0.147	-0.004
	Gentile L.	Basso	0.24	6.5	1.85	0.165	-0.004
	Frantoio	Alto	0.30	9.8	1.82	0.123	-0.003
	Frantoio	Basso	0.38	9.0	2.00	0.121	-0.0025
	Nocellara B.	Alto	0.35	4.2	1.59	0.144	-0.008
	Nocellara B.	Basso	0.29	4.8	1.73	0.149	-0.004
	Peranzana	Alto	0.27	5.4	1.76	0.161	0.007
	Peranzana	Basso	0.28	6.3	1.87	0.166	0.007

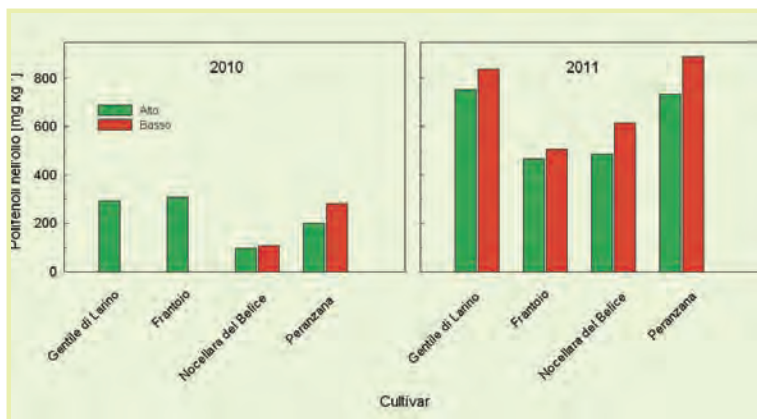


Fig. 7. Contenuto in polifenoli totali in oli ottenuti da olivi di diverse cultivar a Larino (CB) sottoposti a due differenti regimi irrigui (Alto, consuetudine aziendale; Basso, volumi irrigui inferiori rispetto alla consuetudine aziendale) nel 2009. Gli istogrammi rappresentano le medie di 3 repliche per tesi. Lettere diverse indicano differenze minime significative (LSD) calcolate mediante ANOVA ($p < 0.05$).

Tabella 13. Peso medio del frutto di olivi di diverse cultivar presso aziende nella provincia di Lecce nel 2009. Il peso medio del frutto è ottenuto dal peso di 50 frutti per ciascun trattamento irriguo.

Cultivar	Livello irriguo	Peso medio del frutto [g]			
		28.07.09	25.08.09	28.09.09	27.10.09
Ogliarola Salentina	Alto	0.48	0.60	0.87	1.22
Ogliarola Salentina	Basso	0.55	0.56	0.71	1.20
Cellina di Nardò	Alto	1.2	1.00	N.D.	1.62
Cellina di Nardò	Basso	1.1	0.80	N.D.	1.63
Coratina	Alto	1.7	2.7	N.D.	3.65
Coratina	Basso	1.40	2.10	N.D.	3.27
Frantoio	Alto	1.14	1.72	2.41	2.80
Frantoio	Basso	1.24	1.84	2.26	N.D.

N.D., non disponibile.

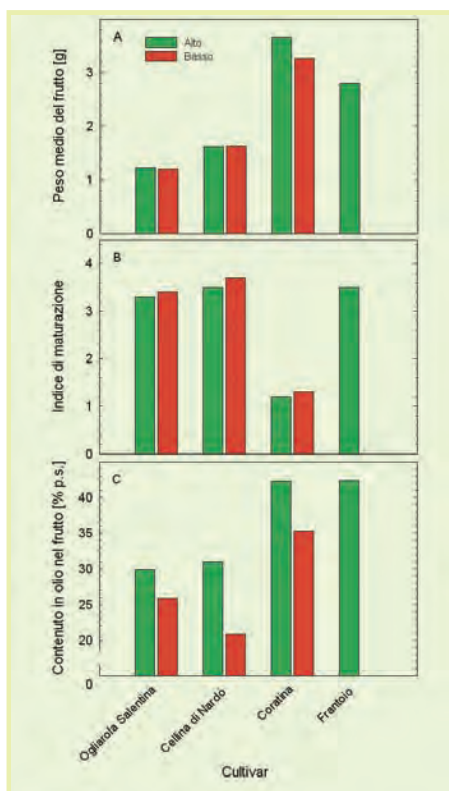


Fig. 8. Peso medio del frutto, indice di maturazione e contenuto in olio nel mesocarpo in olivi di diverse cultivar presso le aziende in provincia di Lecce sottoposti a due differenti regimi irrigui (Alto, consuetudine aziendale; Basso, volumi irrigui inferiori rispetto alla consuetudine aziendale) nel 2009. Ciascun istogramma rappresenta una replica per tesi.

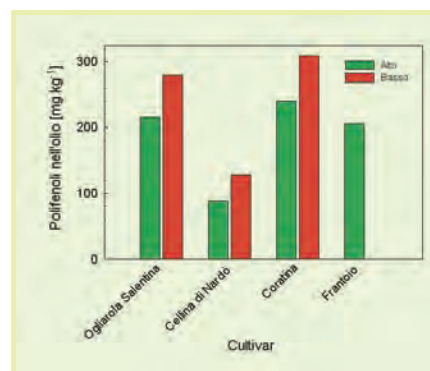


Fig. 9. Contenuto in polifenoli in oli ottenuti da olivi di diverse cultivar presso le aziende in provincia di Lecce sottoposti a due differenti regimi irrigui (Alto, consuetudine aziendale; Basso, volumi irrigui inferiori rispetto alla consuetudine aziendale) nel 2009. Ciascun istogramma rappresenta una replica per tesi.



Tabella 14. Acidità libera, numero di perossidi, K_{232} , K_{270} e ΔK di oli ottenuti da olivi sottoposti a differenti regimi irrigui nel 2009 in provincia di Lecce. I valori si riferiscono ad un unico campione di olio per tesi irrigua.

Cultivar	Livello irriguo	Acidità libera [% ac. oleico]	Numero di perossidi [meq Kg ⁻¹]	K_{232}	K_{270}	ΔK
Ogliarola S.	Alto	0.3	10.3	1.96	0.11	-0.0022
Ogliarola S.	Basso	0.2	8.7	2.00	0.17	-0.0009
Cellina N.	Alto	0.3	10.2	2.00	0.15	-0.0003
Cellina N.	Basso	0.3	9.5	2.00	0.14	-0.0024
Coratina	Alto	0.2	3.9	1.83	0.16	-0.0019
Coratina	Basso	0.2	6.4	2.00	0.18	-0.0022
Frantoio	Alto	0.4	6.6	1.96	0.11	-0.0007
Frantoio	Basso	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.

N.D., non disponibile.

Discussione

L'irrigazione è di notevole importanza ai fini della produttività e della sostenibilità dell'oliveto in tutte le regioni italiane. I vantaggi principali dell'irrigazione si hanno a partire dall'impianto e per tutta la fase di allevamento in quanto la disponibilità idrica stimola l'attività vegetativa e anticipa l'entrata in produzione. Raggiunta la fase di maturità dell'oliveto, l'irrigazione consente di ottenere produzioni elevate e contribuisce, insieme ad altre pratiche agronomiche, a ridurre i fenomeni di alternanza che caratterizzano questa coltura. Tutto ciò spiega la recente diffusione dell'irrigazione negli oliveti finalizzati alla produzione da olio, non soltanto nei nuovi impianti intensivi ma anche in quelli tradizionali precedentemente non irrigati. Allo stesso tempo, è di fondamentale importanza ottimizzare l'uso dell'acqua, risorsa sempre più scarsa e preziosa nelle regioni olivicole italiane, sviluppando protocolli di gestione irrigua in grado di minimizzare il consumo di acqua per unità di prodotto. La somministrazione controllata dei volumi idrici, cioè in modo da mantenere l'albero in condizioni di deficit idrico moderato, consente di ottenere, oltre ad un risparmio di acqua, chiari benefici in termini di qualità dell'olio. Infatti, se da un lato è stato osservato che il regime idrico non modifica in modo apprezzabile i parametri di qualità merceologica (acidità libera, numero di perossidi, indici spettrofotometrici) [3-5, 12], dall'altro, l'irrigazione influisce sensibilmente sulla concentrazione di composti fenolici idrofili e sulla stabilità dell'olio rispetto all'ossidazione [2, 12]. I composti fenolici influenzano marcatamente sia le caratteristiche organolettiche dell'olio, in quanto responsabili delle note di amaro e piccante, che le sue proprietà nutraceutiche, svolgendo un ruolo protettivo nei confronti delle malattie cardiovascolari. In particolare, la concentrazione in composti fenolici nell'olio diminuisce in modo lineare al diminuire dello stress idrico. Dal punto di vista organolettico, quindi, l'irrigazione diminuisce la sensazione di amaro dell'olio [1, 3, 4]. Da ciò emerge chiaramente che, a parità di altre condizioni, è possibile ottenere oli con diverse concentrazioni di composti fenolici e di orto-difenoli attraverso la somministrazione controllata dell'acqua. Naturalmente, l'andamento climatico durante la stagione di crescita influisce sulla risposta sia in termini di valori assoluti di concentrazione che di differenze legate ai differenti volumi irrigui somministrati. I diversi andamenti climatici nei tre anni di studio hanno consentito di valutare la risposta all'irrigazione nell'oliveto in un'ampia gamma di condizioni, in particolare quelle pluviometriche. Ad esempio, le prove svolte nel 2010 sono

state fortemente influenzate dalle abbondanti precipitazioni sia nel periodo primaverile che nel corso dell'estate. Ciò ha consentito agli alberi di vegetare in condizioni idriche ottimali durante le fasi di fioritura, allegagione, sviluppo del frutto e inolizione. Risulta evidente che in tali condizioni gli effetti della gestione irrigua sulle caratteristiche del frutto e la qualità dell'olio si riducono notevolmente. Allo stesso tempo, però, alla luce di queste considerazioni, assumono particolare importanza le differenze riscontrate in merito al contenuto in polifenoli nell'olio anche in condizioni di elevata umidità nel suolo prolungata nel tempo, con solo circa 20-30 giorni di stress verificatosi a cavallo dell'indurimento del nocciolo.

Nel presente lavoro sono stati sviluppati dei protocolli operativi per la gestione dell'irrigazione volta ad ottimizzare quantità e qualità delle produzioni. Ad esempio, in un oliveto dell'Italia centrale, con clima sub-umido continentale e suolo franco-sabbioso, la somministrazione di volumi irrigui pari a circa il 40-60% del fabbisogno idrico dell'albero durante il periodo primaverile-estivo ha consentito di mantenere un'elevata efficienza produttiva e di conseguire un notevole risparmio di acqua. Inoltre, dal punto di vista qualitativo, tale strategia irrigua ha consentito di aumentare del 26-54% il contenuto in polifenoli totali nell'olio. Risultati simili sono stati ottenuti utilizzando protocolli irrigui semplificati in oliveti del Nord Italia sulle cultivar Leccino e Casaliva e al Sud su alcune delle principali cultivar meridionali. In generale, importanti ricadute pratiche legate all'utilizzazione di strategie di irrigazione in deficit consistono nella possibilità di migliorare o diversificare il profilo organolettico e anti-ossidante dell'olio. Ad esempio, attraverso il dosaggio controllato dell'irrigazione è possibile ridurre la concentrazione in composti fenolici negli oli di alcune cultivar, come le cvs. Coratina e Moraiolo, che si contraddistinguono per l'elevato contenuto in composti fenolici idrofili, o aumentarla in oli di altre cultivar, come la cv. Leccino, che presentano concentrazioni in polifenoli relativamente basse. Pertanto, la razionale somministrazione di acqua consente di dosare opportunamente la concentrazione di composti fenolici nell'olio, e di conseguenza le sensazioni di amaro e piccante.

GESTIONE DEL SUOLO

Introduzione

La moderna gestione dell'oliveto non può prescindere da una riduzione dell'impatto ambientale. La corretta gestione del suolo ha notevoli conseguenze sulla fertilità del suolo e, quindi, sulla sostenibilità dell'oliveto. Una corretta gestione del terreno, mediante tecniche rispettose delle caratteristiche fisiche, microbiche e chimiche del suolo, riduce l'impatto e il depauperamento di questa risorsa non rinnovabile. La lavorazione periodica del terreno causa perdite di suolo, accelerazione della mineralizzazione della sostanza organica con conseguenti effetti negativi sulla struttura del terreno. Le finalità principali della lavorazione del suolo nell'oliveto consistono nell'eliminazione della flora infestante, nell'interramento dei concimi minerali ed organici e nella limitazione delle perdite di acqua dal suolo per risalita capillare.

Tra le tecniche colturali meno dispendiose ed a minor impatto ambientale, l'inerbimento presenta indubbi vantaggi nel miglioramento della struttura e della fertilità del suolo. In particolare, l'inerbimento diminuisce l'erosione superficiale, aumenta la capacità d'infiltrazione dell'acqua, riduce la compattazione e aumenta la portanza del suolo rispetto al terreno lavorato. Allo stesso tempo, il prato compete con le radici degli alberi per l'acqua e gli elementi nutritivi, e può ridurre la crescita e la produttività dell'albero [13]. L'inerbimento può essere naturale, quando il prato è costituito da specie spontanee, o artificiale, nel caso in cui siano seminate singole specie o miscugli di graminacee e leguminose. Inoltre, in base al periodo di permanenza del prato nell'arco dell'anno e alla superficie dell'oliveto inerbita, si parla di inerbimento temporaneo o permanente e di inerbimento parziale o totale. Nel primo caso la differenza consiste nel mantenere la copertura vegetale per tutto l'anno o solo nei periodi più umidi, in cui non si manifestano fenomeni di competizione idrica tra il prato e l'olivo. Nel secondo caso, invece, l'inerbimento è parziale quando interessa solo la zona dell'interfila, e totale



quando tutto l'oliveto è inerbito. Quando l'inerbimento è parziale, il controllo della flora infestante può essere effettuato mediante il diserbo chimico che, tuttavia, nel lungo periodo, può comportare dei problemi ecologici e di impatto ambientale. Alcuni studi indicano che l'inerbimento non riduce la produttività dell'oliveto rispetto alla gestione con lavorazione periodica in condizioni non irrigue [14, 15] e che può servire a contenere l'alternanza di produzione [16], ma ulteriori indagini sono necessarie per quantificare eventuali effetti di lungo termine della copertura vegetale sulla produzione, in quanto i risultati sono strettamente dipendenti dall'ambiente di coltivazione. La possibilità di introdurre l'inerbimento spontaneo dell'interfila o dell'intera superficie del suolo costituisce un passo in avanti nella gestione del suolo. Tuttavia, resistenze da parte degli olivicoltori si incontrano soprattutto in ambienti con estati lunghe e siccitose per i possibili effetti negativi sulla crescita e produttività degli alberi. In tal senso, sono stati valutati gli effetti di due tecniche di gestione del suolo che prevedevano la lavorazione periodica superficiale del terreno o l'inerbimento totale permanente con flora spontanea sui parametri produttivi dell'oliveto e sulla qualità dell'olio, in un oliveto pianeggiante dell'Italia centrale.

Materiali e Metodi

Il lavoro è stato svolto presso lo stesso oliveto utilizzato per il confronto tra differenti regimi irrigui a Venturina (LI) in un suolo pianeggiante, franco-sabbioso (60% sabbia, 15% argilla e 25% limo) e con un contenuto in sostanza organica pari all'1,8% (Foto 10). Il suolo è stato lavorato periodicamente ad una profondità di 0,1 m fino ad ottobre 2004 quando la gestione venne differenziata in due tesi: a) lavorazione periodica superficiale con erpice a coltelli; b) inerbimento permanente sfalciato periodicamente. Le date di piena fioritura e di raccolta nel 2009, 2010 e 2011 sono quelle riportate precedentemente. Alla raccolta sono stati misurati la produzione ad albero, il peso medio del frutto (media di 50 frutti per albero), l'indice di maturazione e il contenuto in olio sul peso secco mediante la procedura precedentemente riportata. L'estrazione dell'olio e le analisi sono state eseguite secondo le stesse modalità utilizzate per il confronto tra i diversi livelli irrigui. Per caratterizzare la struttura del suolo, nel 2010 sono stati analizzati campioni di terreno prelevati da entrambe le tesi di gestione del suolo.

Risultati

Per quanto riguarda il confronto tra inerbimento permanente e lavorazione superficiale è emerso un diverso effetto sulle componenti vegeto-produttive dell'olivo, sulla qualità dell'olio e sulle caratteristiche del suolo. Le caratteristiche del frutto non hanno risentito della diversa



Foto 10. Parcelle lavorate ed inerbite di olivi (cv. Frantoio) a Venturina (LI).

gestione del suolo. Le differenze riscontrate nei tre anni di studio in merito al peso medio del frutto, all'indice di maturazione e al contenuto in olio nel mesocarpo sono state contenute, e statisticamente significative solo nel 2009, con valori leggermente superiori nella tesi inerbita (+24, +3% e + 4% rispetto alla tesi sottoposta a lavorazione periodica, rispettivamente) (Fig. 10). Anche per quanto riguarda i parametri produttivi le differenze tra le due tesi, seppur in questo caso più evidenti, non sono state statisticamente significative (Fig. 11).

Nei tre anni di sperimentazione gli alberi su suolo lavorato hanno avuto produzioni in frutti e in olio superiori del 23-61% e del 19-47% rispetto a quelle della tesi inerbita, rispettivamente, e del 22-113% per quanto riguarda il numero di frutti ad albero (Fig. 11). Tali differenze sono state in parte dovute alle maggiori dimensioni degli alberi della tesi lavorata. Infatti, esprimendo gli stessi parametri in funzione dell'area della sezione trasversale del fusto (TCSA) le uniche differenze che permangono significative si riferiscono al numero di frutti per albero (+55% rispetto alla tesi inerbita) (Fig. 12G).

La gestione del suolo non ha mostrato nessun effetto evidente sull'acidità libera, sul numero di perossidi e sulle costanti spettrofotometriche (Tab. 15). Per quanto riguarda il contenuto in polifenoli e orto-difenoli nell'olio solo nel 2009 sono stati riscontrati degli aumenti significativi (+40 e +37%, rispettivamente) negli oli di alberi presenti su suolo inerbito permanentemente (Fig. 13).

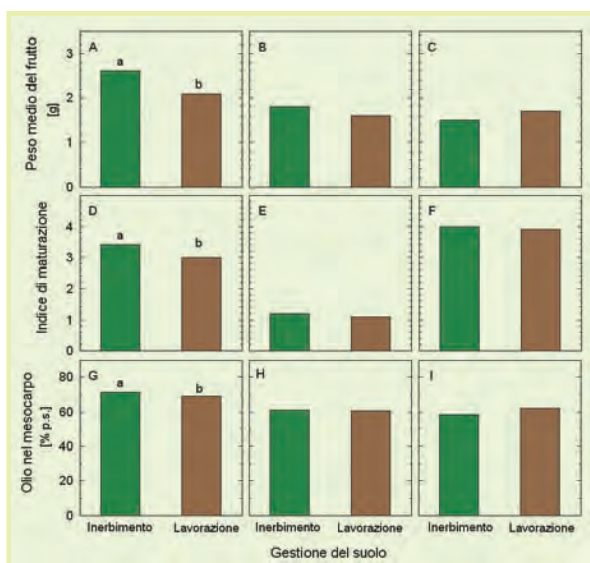


Fig. 10. Peso medio del frutto, indice di maturazione e contenuto in olio nel mesocarpo in olivi (cv. Frantoio) coltivati con diversa gestione del suolo ed irrigazione in deficit controllato nel 2009 (A, D, G), 2010 (B, E, H) e 2011 (C, F, I) a Venturina (LI). Lettere diverse indicano differenze minime significative (LSD) calcolate mediante ANOVA ($p < 0.05$) ($n = 4-6$ alberi per tesi).

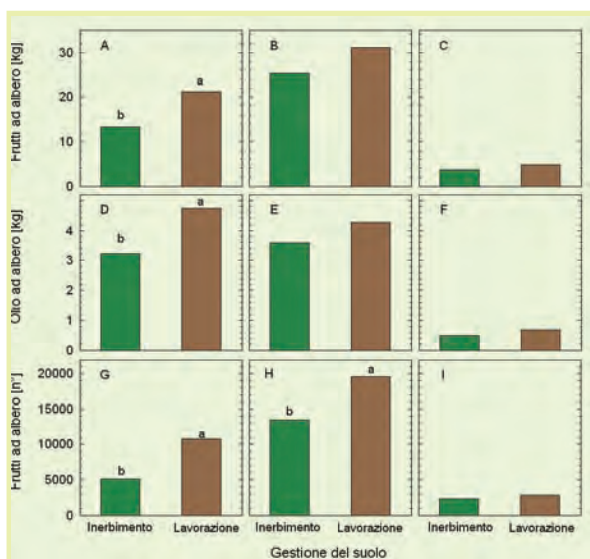


Fig. 11. Parametri produttivi di olivi (cv. Frantoio) coltivati con diversa gestione del suolo ed irrigazione in deficit controllato nel 2009 (A, D, G), 2010 (B, E, H) e 2011 (C, F, I) a Venturina (LI). Lettere diverse indicano differenze minime significative (LSD) calcolate mediante ANOVA ($p < 0.05$) ($n = 4-6$ alberi per tesi). TCSA, area della sezione trasversale del fusto.



Discussione

La scelta della tecnica di gestione del suolo dipende una serie di fattori che, a seconda delle caratteristiche climatiche e pedologiche dell'ambiente di coltivazione, assumono diversa importanza. La competizione per la risorsa idrica, ad esempio, risulta essere il principale fattore limitante alla diffusione dell'inerbimento negli oliveti non irrigui di numerose aree dell'Italia meridionale e delle isole, caratterizzate da periodi di siccità durante il periodo primaverile ed estivo. D'altra parte, i fenomeni erosivi innescati dalle lavorazioni del suolo in oliveti collinari possono interessare zone più o meno vaste ed avere ripercussioni anche sull'assetto idrogeologico.

Dal confronto effettuato in un oliveto dell'Italia centrale, su suolo pianeggiante, irrigato in deficit controllato, è emerso che la produzione in frutti e in olio degli alberi su suolo inerbito è stata inferiore a quella degli alberi su suolo lavorato. Questo risultato è stato dovuto principalmente alle maggiori dimensioni degli alberi su suolo lavorato per la minore crescita degli alberi nei primi anni dall'impianto. L'inerbimento totale permanente è stato, infatti, iniziato

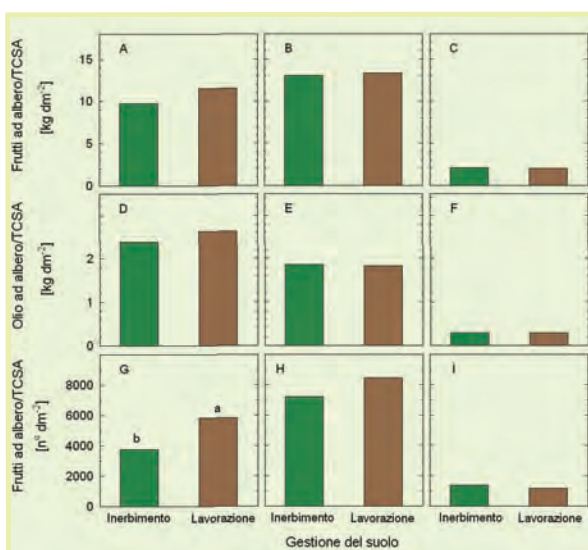


Fig. 12. Efficienza produttiva di olivi (cv. Frantoio) coltivati con diversa gestione del suolo ed irrigazione in deficit controllato nel 2009 (A, D, G), 2010 (B, E, H) e 2011 (C, F, I) a Venturina (LI). Lettere diverse indicano differenze minime significative (LSD) calcolate mediante ANOVA ($p < 0.05$) ($n = 4-6$ alberi per tesi). TCSA, area della sezione trasversale del fusto.

Tabella 15. Acidità libera, numero di perossidi, K_{232} , K_{270} e ΔK di oli ottenuti da olivi (cv. Frantoio) su terreno sottoposto a inerbitamento permanente o a lavorazione superficiale nel 2009, 2010 e 2011 a Venturina (LI). I valori sono medie di 4 (2009 e 2010) e 3 (2011) campioni di olio per tesi. Lettere differenti indicano differenze minime significative ($p \leq 0.05$) calcolate mediante analisi della varianza (ANOVA).

Anno	Gestione del suolo	Acidità libera [% ac. oleico]	Numero di perossidi [meq O ₂ Kg ⁻¹]	K_{232}	K_{266}	ΔK
2009	Inerbimento	0.34	7.2	2.000	0.160	-0.002
	Lavorazione	0.31	5.3	1.897	0.150	-0.003
2010	Inerbimento	0.23	9.3	1.875	0.109	-0.003
	Lavorazione	0.20	9.6	1.888	0.107	-0.003
2011	Inerbimento	0.37	17.8	2.18	0.117	-0.0018
	Lavorazione	0.43	14.8	2.17	0.119	-0.0015
2009-11 (medie)	Inerbimento	0.31	10.8	2.00	0.130	-0.0025
	Lavorazione	0.30	9.5	1.97	0.126	-0.0027

già dal termine della seconda stagione di crescita. Infatti, esprimendo le produzioni unitarie in base alle dimensioni degli alberi non sono emerse differenze tra le due tecniche di gestione del suolo. Inoltre, il maggior volume della chioma degli alberi su suolo lavorato ha comportato un maggior carico di frutti che, a sua volta, ha in parte determinato un minor peso medio del frutto rispetto a quello di alberi su suolo inerbito. La struttura del suolo è stata influenzata in maniera evidente dal tipo di gestione del suolo. Il suolo inerbito ha presentato maggiori valori di macroporosità nello strato superficiale e un maggiore tasso di infiltrazione rispetto al suolo lavorato, probabilmente per la protezione esercitata dalla copertura vegetale che ha ridotto la distruzione meccanica degli aggregati della superficie del terreno ad opera dell'azione battente della pioggia.

Alla luce di questi risultati è possibile affermare che l'inerbimento è una pratica consigliabile negli oliveti irrigui in quanto consente di migliorare le caratteristiche fisiche e biologiche del suolo mantenendo elevati i livelli produttivi e qualitativi dell'oliveto. La presenza di un cotico erboso facilita anche le operazioni colturali aumentando la portanza del terreno e migliorando la transitabilità nell'oliveto durante i periodi umidi. Tuttavia, a causa dei possibili effetti negativi sulla crescita vegetativa dell'olivo è opportuno evitare un insediamento troppo precoce del prato. Quindi, l'inerbimento, anche in condizioni irrigue, dovrebbe essere iniziato a partire dal terzo o quarto anno dall'impianto.

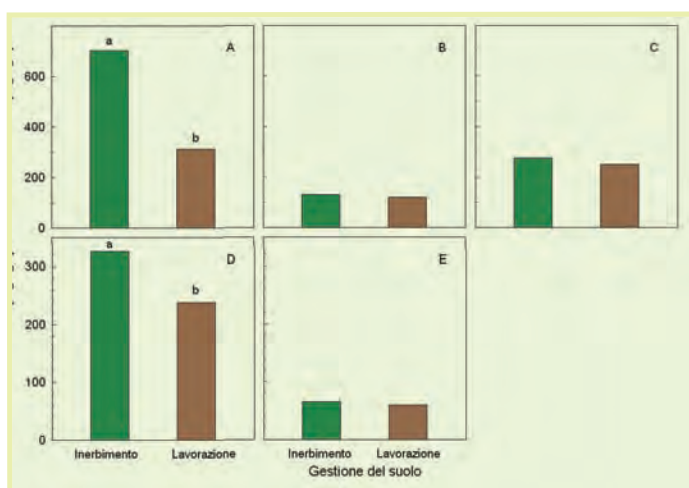


Fig. 13. Contenuto in polifenoli e ortodifenoli in oli ottenuti da olivi (cv. Frantoio) coltivati con diversa gestione del ed irrigazione in deficit controllato nel 2009 (A, D), 2010 (B, E) e 2011 (C, F) a Venturina (LI). Lettere diverse indicano differenze minime significative (LSD) calcolate mediante ANOVA ($p < 0.05$) ($n = 3-4$ alberi per tesi).

Conclusioni

Alla luce dei dati raccolti nel triennio di lavoro è possibile fornire alcune indicazioni pratiche in merito alla gestione dell'irrigazione e del suolo nell'oliveto. Per quanto riguarda l'irrigazione in oliveti destinati alla produzione di olio è possibile affermare che la somministrazione di volumi irrigui inferiori di circa il 30-40% rispetto alla piena irrigazione consente di ottenere oli con un maggior contenuto in polifenoli e, quindi, maggiori proprietà salutistiche e una migliore conservabilità. Inoltre, in annate particolarmente piovose come nel 2010 i volumi di acqua per l'irrigazione scendono a circa il 15% del fabbisogno per olivi pienamente irrigati. Le riduzioni delle produzioni in olio appaiono contenute e compatibili con gli obiettivi commerciali aziendali, specialmente se si considera il notevole risparmio di acqua nel corso della stagione irrigua. Infine, per ciò che concerne la gestione del suolo, l'inerbimento risulta essere una tecnica sostenibile dal punto di vista ambientale e utile per il mantenimento della fertilità del suolo nell'oliveto. L'inerbimento non dovrebbe iniziare, anche in oliveti irrigui, prima del 3°- 4° anno dopo l'impianto, per evitare fenomeni di competizione con l'olivo che potrebbero causare un rallentamento della crescita e un ritardo dell'entrata in produzione. Nelle condizioni dell'Italia centrale il prato può essere gestito in maniera razionale mediante 2-3 sfalci da effettuarsi poco prima della ripresa vegetativa dell'olivo, nel periodo estivo, e in prossimità della raccolta, per agevolare il transito dei mezzi e del personale nell'oliveto.



RINGRAZIAMENTI.

Si ringraziano le aziende Comincioli, La Meridiana, Rocca, Colonna, Negro, Verderamo, Gianuzzi, Conti di Stajano e Melcarne presso le quali sono stati allestiti i campi prova, nonché i Drr. Pierpaolo Vezzola, Federico Turina, Nicola Berini, Nazario d'Errico, Gianni Gemma, Vittorio D'Ostuni, Roberto Mele, Vitantonio Giorgiani e i tecnici Maurizio Gentili, Rolando Calabrò, Michele Bernardini, senza la cui eccellente collaborazione non sarebbe stato possibile eseguire il lavoro.

BIBLIOGRAFIA.

- [1] M.J. Berenguer, P.M. Vossen, S.R. Grattan, J.H. Connell, V.S. Polito. Tree irrigation level for optimum chemical and sensory properties of olive oil. *HortSci.* 41, 427-432 (2006).
- [2] M.J. Motilva, M.J. Tovar, M.P. Romero, S. Alegre, J. Girona. Influence of regulated deficit irrigation strategies applied to olive trees (*Arbequina* cultivar) on oil yield and oil composition during the fruit ripening period. *J. Food Sci. Agric.* 80, 2037-2043 (2000).
- [3] M. Patumi, R. d'Andria, G. Fontanazza, G. Morelli, P. Giorio, G. Sorrentino. Yield and oil quality of intensively trained trees of three cultivars of olive (*Olea europaea* L.) under different irrigation regimes. *J. Hortic. Sci.* 74, 729-737 (1999).
- [4] M.J. Tovar, M.P. Romero, J. Girona, M.J. Motilva. Composition and organoleptic characteristics of oil from *Arbequina* olive (*Olea europaea* L.) trees under deficit irrigation. *J. Sci. Food Agric. Biotechnol.* 82, 1755-176 (2002).
- [5] M. Servili, S. Esposto, E.M. Lodolini, R. Selvaggini, A. Taticchi, S. Urbani, G.F. Montedoro, M. Serravalle, R. Gucci. Irrigation effects on quality, phenolic composition and selected volatiles of virgin olive oil cv. *Leccino*. *J. Agric. Food Chem.* 55, 6609-6618 (2007).
- [6] M.P. Romero, M.J. Tovar, J. Girona, M.J. Motilva. Changes in the HPLC phenolic profile of virgin olive oil from young trees (*Olea europaea* L. cv. *Arbequina*) grown under different deficit irrigation strategies. *J. Agric. Food Chem.* 50, 5349-5354 (2002).
- [7] R. Gucci, M. Servili. L'irrigazione in deficit controllato in olivicoltura. *Accademia dei Georgofili. Quaderni* 2005, Firenze 24 novembre 2005, 119-142 (2006).
- [8] G. Caruso, H.F. Rapoport, R. Gucci. Long-term evaluation of yield components of young olive trees during the onset of fruit production under different irrigation regimes. *Irri. Sci.* doi: 10.1007/s00271-011-0286-0 (2011).
- [9] E.U. Off. J. Eur. Communities, 2003 November 6, Regulation 1989/03 amending Regulation (EEC) No 2568/91 on the characteristics of olive oil and olive-pomace oil and on the relevant methods of analysis modifies the CEE n. 2568/91 on olive oils and pomace olive oils characteristics and relative analysis methods. *Official Journal L.* 295/57 13/11/2003.
- [10] G.F. Montedoro, M. Servili, M. Baldioli, E. Miniati. Simple and hydrolyzable phenolic compounds in virgin olive oil. 1. Their extraction, separation, and quantitative and semiquantitative evaluation by HPLC. *J. Agric. Food Chem.* 40, 1571-1576 (1992).
- [11] R. Gucci, G. Caruso, A. Canale, A. Loni, A. Raspi, S. Urbani, A. Taticchi, S. Esposto, M. Servili. Qualitative changes of olive oils obtained from fruits damaged by *Bactrocera oleae* (Rossi). *HortSci.* 47(2), (2012). pp.301-306
- [12] A. Gómez-Rico, M.D. Salvador, A. Moriana, D. Pérez, N. Olmedilla, F. Ribas, G. Fregapane. Influence of different irrigation strategies in a traditional *Cornicabra* cv. olive orchard on virgin olive oil composition and quality. *Food. Chem.* 100, 568-578 (2007).
- [13] D. Atkinson. The distribution and effectiveness of the roots of tree crops. *Hort. Rev.* 2, 424-490 (1980).
- [14] J.A. Gómez, J.V. Giraldez, M. Pastor, E. Fereres. Effects of tillage method on soil physical properties, infiltration and yield in an olive orchard. *Soil Till. Res.* 52, 167-175 (1999).
- [15] A.J. Hernández, C. Lacasta, J. Pastor. Effects of different management practices on soil conservation and soil water in a rainfed olive orchard. *Agric. Water Manage.* 77, 232-248 (2005).
- [16] P. Toscano, C. Briccoli Bati, T. Trombino. Grass-cover effects on the vegetative and productive state of a young hilly olive-grove. - III Int. ISHS Symposium on Olive Growing - Chania 22-26 Sep.1997. *Acta Hort.* 474, 181-184. (1999).

Analisi nutrizionale e sensoriale delle olive da tavola nell'ambito delle attività previste dal Regolamento CE n.867/2008

ABSTRACT

Le olive da tavola prodotte da aziende di lavorazione e trasformazione operanti in diverse realtà territoriali (dalla regione Lazio - provincia di Latina - sono pervenuti campioni della cultivar Itrana, mentre dalla regione Puglia - province di Foggia e Lecce - campioni delle cultivar Peranzana, Bella di Cerignola e Cellina di Nardò) sono state caratterizzate dal punto di vista nutrizionale e sensoriale al fine di individuare i punti critici di ciascuna filiera, rimuovere pratiche errate, standardizzare la metodologia, introdurre tecnologie innovative e realizzare un'etichetta nutrizionale che esalti le caratteristiche di qualità dei differenti prodotti.

INTRODUZIONE

Il CRA-OLI Centro di Ricerca per l'Olivicoltura e l'Industria Olearia, sede di Città Sant'Angelo (PE), nell'ambito dei programmi di attività previsti dal Regolamento CE n.867/2008, ha effettuato la caratterizzazione dal punto di vista nutrizionale e sensoriale di olive da tavola prodotte da aziende di lavorazione e trasformazione operanti in diverse realtà territoriali, individuate nell'ambito delle associate UNAPROL: dalla regione Lazio (provincia di Latina) sono pervenuti campioni della cultivar Itrana, mentre dalla regione Puglia (province di Foggia e Lecce) campioni delle cultivar Peranzana, Bella di Cerignola e Cellina di Nardò. Le cultivar in esame vengono quasi tutte lavorate con il "metodo al naturale", con varianti locali legate alla tradizione del territorio e allo stadio di maturazione dei frutti. Si tratta di un sistema di lavorazione che non comporta trattamenti di tipo chimico, per cui il processo di deamarizzazione avviene naturalmente con la semplice immersione dei frutti in salamoia. Essendo completamente biologico, il processo è molto lungo poiché il rilascio di sostanze fermentescibili attraverso la cuticola è lento. Il procedimento si basa su delicati equilibri del processo di fermentazione in cui interviene una complessa microflora di batteri Gram negativi, batteri lattici e lieviti. Per quanto riguarda la cultivar Bella di Cerignola, il sistema di lavorazione utilizzato prevede una deamarizzazione con soda, seguita da lavaggi ed una breve fermentazione lattica in salamoia (Metodo Sivigliano). L'analisi dei dati ottenuti dalla caratterizzazione nutrizionale e sensoriale dei diversi prodotti ci consentirà di individuare i punti critici di ciascuna filiera (es: tempi lunghi di fermentazione, pastorizzazione), rimuovere pratiche errate, standardizzare la metodologia, introdurre tecnologie innovative (es: impiego di starter selezionati) e realizzare un'etichetta nutrizionale che esalti le caratteristiche di qualità dei differenti prodotti.

Materiali e Metodi

In questi due anni di attività del Progetto, sono state individuate quattro differenti aree del centro-sud Italia, vocate alla produzione di olive da mensa con cultivar autoctone di olivo:

- Lazio - provincia di Latina (cv. Itrana)
- Puglia - Alto Tavoliere (cv. Peranzana)
- Puglia - Basso Tavoliere (cv. Bella di Cerignola)
- Puglia - Salento (cv. Cellina di Nardò)



Il campionamento è stato effettuato dai tecnici Unaprol operanti nelle diverse zone. I campioni ricevuti sono stati analizzati dal punto di vista nutrizionale e sensoriale al fine di individuare i punti critici e le potenzialità della filiera.

MONITORAGGIO CHIMICO-FISICO DELLE SALAMOIE

Determinazione del pH

Il pH della salamoia è il principale indicatore dell'andamento della fermentazione. La sua valutazione viene effettuata mediante impiego di un pHmetro.

Acidità libera

L'acidità libera è un importante indicatore dell'andamento della fermentazione, infatti l'attività dei batteri lattici è individuata da un aumento del contenuto di acidi organici liberi nella salamoia.

Tale determinazione avviene per titolazione mediante una soluzione di idrossido di sodio (NaOH) 0,1 N fino al punto di equilibrio della reazione di neutralizzazione evidenziato dall'indicatore (fenolftaleina in soluzione idroalcolica all'1%). L'acidità libera viene espressa in grammi di acido lattico per 100 ml di salamoia

Concentrazione salina

La concentrazione salina della salamoia è un parametro di fondamentale importanza per la sua influenza sui processi di fermentazione. La determinazione della concentrazione salina si effettua tramite titolazione mediante una soluzione di nitrato di argento (AgNO_3) 0,1 N fino al punto di equilibrio della reazione evidenziato dal viraggio dell'indicatore (cromato di potassio) dal giallo all'arancione. In realtà si titola la quantità di ione cloruro che, conseguentemente ci riporta la quantità di cloruro di sale per unità di volume.

ANALISI NUTRIZIONALE DELLA PORZIONE EDIBILE

Contenuto in grassi, composizione acidica e sterolica

Il contenuto in grassi (espresso in g/100 g di porzione edibile) viene misurato dopo estrazione al Soxhlet con etere di petrolio 40-70 per almeno 6 h utilizzando il residuo secco precedentemente ottenuto dalla polpa per essiccazione. La composizione acidica viene invece definita mediante gascromatografia (Reg. CE 796/2002) e da questa è possibile dedurre il contenuto percentuale di grassi saturi (obbligatorio nel caso di utilizzo dell'etichetta estesa), monoinsaturi, polinsaturi, trans, omega-3 e omega-6. Dall'insaponificabile viene estratta e separata la frazione sterolica mediante gascromatografia con colonna capillare (Reg. CEE 2568/1991).

Contenuto in proteine

Il contenuto in proteine (espresso in g/100 g di p.e.) viene misurato mediante il metodo Kjeldahl. La materia organica viene completamente mineralizzata mediante riscaldamento in presenza di un catalizzatore e trasformata in ammonio solfato. Viene aggiunto alla miscela NaOH al 40% con conseguente formazione di ammoniaca in forma gassosa, che viene raccolta in una soluzione di acido solforico e titolata con soluzione normex di NaOH. La quantità di azoto viene calcolata dalla quantità di ammoniaca liberata. Tenendo presente che le proteine contengono il 16% di azoto ($100 \text{ g di proteine} / 16 \text{ g di azoto} = 6,25$), possiamo ottenere la corrispondente quantità di proteine in grammi, moltiplicando i grammi di azoto per 6,25.

Contenuto in carboidrati

Il calcolo del contenuto in carboidrati totale (espresso in g/100 g di p.e.) si effettua sottraendo a 100 l'umidità, le ceneri, i grassi e le proteine. La composizione in zuccheri singoli viene effettuata mediante HPLC.

Contenuto in fibra alimentare

La procedura analitica per la determinazione della fibra alimentare totale (TDF), espresso in g/100 g di p.e., prevede inizialmente una serie di digestioni del campione tramite enzimi termostabili (α -amilasi, proteasi e amiloglicosidasi), simulanti il reale processo digestivo a carico degli alimenti che si realizza nel tratto digerente umano e degli animali, seguite da precipitazione, filtrazione e recupero del residuo costituito dalla fibra insolubile (IDF) e da quella solubile (SDF), in accordo con la metodica ufficiale A.O.A.C. 985.29. Il contenuto in TDF è dato dalla somma delle due frazioni.

Valore energetico

Il valore energetico viene espresso in chilocalorie e in kilojoule per adeguarsi agli standards internazionali. Per il calcolo si può far riferimento alla Direttiva 90/496/CEE (recepita dal D. Lgs. 16 febbraio 1993 n. 77) e sue modifiche (Direttiva 2008/100/CE).

Il valore energetico deve essere calcolato tenendo conto dell'apporto di ciascun nutriente, usando i seguenti coefficienti di conversione:

- *carboidrati (ad esclusione dei polialcoli)* 4 kcal/g – 17 kJ/g
- *polialcoli* 2,4 kcal/g – 10 kJ/g
- *proteine* 4 kcal/g – 17 kJ/g
- *grassi* 9 kcal/g – 37 kJ/g
- *alcool (etanolo)* 7 kcal/g – 29 kJ/g
- *acidi organici* 3 kcal/g – 13 kJ/g
- *fibre alimentari* 2 kcal/g - 8 kJ/g

Contenuto in sodio e calcio

Il contenuto in sodio (espresso in g/100 g di p.e.) è stato determinato mediante spettroscopia di emissione atomica, seguendo le metodiche EPA 3010A/1992 + EPA 6010C/2007. Il contenuto in calcio (espresso in mg/100 g di p.e.) è stato determinato mediante spettroscopia di emissione atomica, seguendo le metodiche Rapporti ISTISAN 96/34 + EPA 6020A/2007.

Contenuto in vitamina E (α -tocoferolo)

Per la determinazione dell' α -tocoferolo naturale è stata seguita la metodica UNI EN ISO 9936:2006, che prevede l'utilizzo della cromatografia liquida ad alta risoluzione (HPLC). I risultati sono espressi in mg/100 g di p.e., usando l' α -tocoferolo come standard esterno.

ANALISI SENSORIALE

Il Consiglio Oleicolo Internazionale il 26 novembre 2010 (Decision No DEC-21/98/V/2010) ha adottato la versione revisionata del metodo per la valutazione organolettica delle olive da tavola (Method for the Sensory Analysis of Table Olives - COI/OT/MO No 1/Rev. 1). Questo metodo stabilisce i criteri necessari per l'analisi sensoriale e definisce la metodologia per una loro classificazione sulla base di parametri di qualità.

La valutazione organolettica delle olive da tavola viene eseguita da un gruppo di esperti chiamati a riconoscere le caratteristiche sensoriali gradevoli e sgradevoli e a valutarne l'intensità di percezione. Il panel è composto da un panel leader e da 8-10 assaggiatori. Gli assaggiatori sono chiamati a riconoscere le caratteristiche sensoriali e a valutarne l'intensità, utilizzando una scheda dove ogni attributo viene valutato su una scala continua lineare di 10 cm.

RISULTATI

Caratterizzazione nutrizionale

L'oliva è un alimento, dal punto di vista nutrizionale, completo. Essa è una drupa costituita principalmente da acqua, grassi, carboidrati, proteine, fibra, sostanze pectiche, fenoli, vitamine,



acidi organici ed elementi minerali. La qualità di questo alimento è legata all'effetto combinato di vari fattori, quali l'idoneità della materia prima, le tecnologie di trasformazione, la composizione nutrizionale e, in misura non trascurabile, le proprietà sensoriali (Lanza et al., 2010).

Il valore energetico di 100g di porzione edibile delle nostre olive si aggira intorno alle 200 chilocalorie, valore che riferito ad una dieta da 2000 kcal per una persona adulta di corporatura media che svolga un'attività fisica limitata, rappresenta il 10% del totale.

In un'oliva troviamo circa 11-28 g di grassi/100 g di porzione edibile. Per quanto riguarda i campioni analizzati (Tabelle 1-5), il prodotto con il più basso contenuto in sostanze grasse è risultato quello della Bella di Cerignola (15,5 g/100g p.e.), trasformata con il Metodo Sivigliano, mentre il più alto è risultato quello della Peranzana, lavorata al naturale (23,2 g/100g p.e.). E' da sottolineare la differenza tra il tenore in grassi dell'Itrana "Oliva Bianca" e "Oliva di Gaeta" (17,7 g/100g p.e. e 21,7 g/100g p.e., rispettivamente), sicuramente dovuto alla diversa epoca di raccolta e quindi di maturazione. Come tutte le materie grasse il 98-99% circa è costituito dalla frazione saponificabile ed il rimanente 1-2% dall'insaponificabile, cioè la parte

delle sostanze che non subiscono alcuna alterazione se sottoposte all'azione di alcali concentrati. Nella frazione saponificabile dell'olio troviamo in prevalenza una miscela di trigliceridi (circa il 98-99%), composti costituiti da una molecola di glicerolo esterificata con acidi grassi a lunga catena, accompagnati da piccole quantità di digliceridi e monogliceridi. La composizione acidica di tale grasso dipende sicuramente dalla varietà e dall'epoca di raccolta, invece sembra scarsamente influenzata dal tipo di lavorazione e, in ogni caso, rientra nei limiti fissati per ogni acido grasso in un olio extra vergine di oliva. Esiste una netta prevalenza di monoinsaturi (MUFA; principalmente acido oleico), una discreta quantità di saturi (SFA; principalmente acidi palmitico e stearico) ed una modesta ma sufficiente quantità di polinsaturi (PUFA; principalmente acidi linoleico ed α -linolenico). I MUFA dei campioni da noi analizzati variano da un minimo di circa il 65% ad un massimo di 83 %, gli SFA variano da un minimo di circa l'11% ad un massimo del 27 %, mentre i PUFA variano da un minimo di circa il 3,5% ad un massimo del 17 % (Tabella 6). I rapporti oleico/palmitico e MUFA/SFA > 5.0, che ritroviamo nell'Itrana "Oliva Bianca", nell'Itrana "Oliva di Gaeta" e nella Bella di Cerignola (Tabella 6), suggeriscono che una dieta mediterranea con un consumo moderato di olive da tavola possa contribuire a ridurre le patologie cardiovascolari. La quantità plasmatica di PUFA ω 3 a lunga catena dipende dall'apporto con la dieta dell'acido grasso essenziale α -linolenico (C18:3 ω 3) precursore per la

Tabella 1. Tabella nutrizionale della cv. Itrana "Oliva Bianca". §Direttiva 2008/100/CE del 28.10.2008.

Nutriente g/100g di porzione edibile	valore	LARN (dieta 2000 kcal)	% RDA
Valore energetico (kcal)	193	2000	10 %
Valore energetico (kj)	794	8372	
Proteine (g)	1,5	75	2 %
Carboidrati (g)	5,0	290	2 %
• di cui zuccheri (g)	0,6	70	1 %
Grassi (g)	17,7	65	27 %
di cui saturi (g)	2,8	16	18 %
1. di cui monoinsaturi (g)	14,0	40	35 %
1. di cui polinsaturi (g)	0,9	9	10 %
Fibra alimentare (g)	3,6	23	16 %
Sodio (g)	1,2	2,27	53 %
Calcio (mg)	21,9	800 ^a	3 %
Vit. E (mg)	2,0	12 ^b	17 %

Tabella 2. Tabella nutrizionale della cv. Itrana "Oliva di Gaeta". § Direttiva 2008/100/CE del 28.10.2008.

Nutriente g/100g di porzione edibile	valore	LARN (dieta 2000 kcal)	% RDA
Valore energetico (kcal)	235	2000	12 %
Valore energetico (kj)	969	8372	
Proteine (g)	1,4	75	2 %
Carboidrati (g)	6,5	290	2 %
• di cui zuccheri (g)	0,3	70	0 %
Grassi (g)	21,7	65	33 %
di cui saturi (g)	2,7	16	17 %
1. di cui monoinsaturi (g)	17,7	40	44 %
1. di cui polinsaturi (g)	1,3	9	14 %
Fibra alimentare (g)	4,0	23	17 %
Sodio (g)	1,5	2,27	66 %
Calcio (mg)	28,9	800 ^a	4 %
Vit. E (mg)	1,9	12 ^b	16 %

sintesi degli $\omega 3$ a lunga catena. Il rapporto degli acidi grassi $\omega 6:\omega 3$ assunti con la dieta, è ancora oggi troppo spostato verso gli $\omega 6$ rispetto a quello ideale di 5:1 (LARN, 1996). L'unico prodotto con un rapporto che si avvicina al valore ideale è la Bella di Cerignola (6,6) mentre quello che più si allontana risulta il rapporto $\omega 6:\omega 3$ della Cellina di Nardò (23,3), dovuto al basso contenuto in α -linolenico (Tabella 6).

La frazione insaponificabile comprende diverse sostanze, alcune delle quali hanno valore terapeutico e nutrizionale, altre rappresentano la parte principale della nota aromatica di un olio, altre ancora sono efficaci antiossidanti naturali in grado di conferire al prodotto resistenza all'invecchiamento. Le olive da tavola conservano un buon contenuto di α -tocoferolo/Vitamina E (0,5-2,0 mg/100 g di p.e.; Tabelle 1-5). Gli steroli rappresentano e caratterizzano la frazione insaponificabile e risultano quantitativamente tra i più importanti, dopo gli idrocarburi. La composizione qualitativa della frazione sterolica è significativamente diversa in funzione dell'origine botanica, e perciò potrebbe essere utilizzata per la tracciabilità del prodotto: la composizione sterolica delle due Itrane è infatti molto simile e nel contempo differente dalle altre cv. (Tabella 7). Tra gli steroli i più rappresentativi sono il β -sitosterolo, il campesterolo, il clerosterolo, lo stigmasterolo, il sitostanolo e il $\Delta 5$ -avenasterolo (Tabella 7). Il β -sitosterolo riveste un ruolo importante dal punto di vista salutistico in quanto si oppone all'assorbimento del colesterolo endogeno ed esogeno nell'intestino. Le olive della cultivar Itrana, Bella di Cerignola e Cellina di Nardò si caratterizzano per un elevato valore di β -sitosterolo (> 85%), al contrario della cultivar Peranzana (<80%). Calcolando invece il β -sitosterolo apparente, tutti i prodotti analizzati raggiungono un valore $\geq 93\%$, come stabilito dal Reg UE 61/2011 (che modifica il Reg. CEE 2568/91) per la categoria "olio extra ver-

Tabella 3. Tabella nutrizionale della cv. Peranzana "Metodo al naturale".
§Direttiva 2008/100/CE del 28.10.2008.

Nutriente g/100g di porzione edibile	valore	LARN (dieta 2000 kcal)	% RDA
Valore energetico (kcal)	247	2000	12 %
Valore energetico (kj)	1019	8372	
Proteine (g)	1,7	75	2 %
Carboidrati (g)	5,8	290	2 %
- di cui zuccheri (g)	0,6	70	1 %
Grassi (g)	23,2	65	36 %
di cui saturi (g)	4,1	16	26 %
1. di cui monoinsaturi (g)	17,0	40	43 %
1. di cui polinsaturi (g)	2,1	9	23 %
Fibra alimentare (g)	4,1	23	18 %
Sodio (g)	1,4	2,27	62 %
Calcio (mg)	83,1	800 ^s	10 %
Vit. E (mg)	1,3	12 ^s	11 %

Tabella 4. Tabella nutrizionale della cv. Cellina di Nardò "Metodo al naturale".
§Direttiva 2008/100/CE del 28.10.2008.

Nutriente g/100g di porzione edibile	valore	LARN (dieta 2000 kcal)	% RDA
Valore energetico (kcal)	223	2000	11 %
Valore energetico (kj)	919	8372	
Proteine (g)	1,3	75	2 %
Carboidrati (g)	7,2	290	2 %
- di cui zuccheri (g)	1,7	70	2 %
Grassi (g)	19,9	65	31 %
di cui saturi (g)	4,4	16	28 %
1. di cui monoinsaturi (g)	14,5	40	36 %
1. di cui polinsaturi (g)	1,0	9	11 %
Fibra alimentare (g)	4,8	23	21 %
Sodio (g)	1,5	2,27	66 %
Calcio (mg)	58,7	800 ^s	7 %
Vit. E (mg)	0,7	12 ^s	6 %

Tabella 5. Tabella nutrizionale della cv. Bella di Cerignola "Metodo Sivigliano".
§Direttiva 2008/100/CE del 28.10.2008.

Nutriente g/100g di porzione edibile	valore	LARN (dieta 2000 kcal)	% RDA
Valore energetico (kcal)	164	2000	8%
Valore energetico (kj)	675	8372	
Proteine (g)	1,2	75	2%
Carboidrati (g)	2,5	290	1%
- di cui zuccheri (g)	< 0,6	70	0%
Grassi (g)	15,5	65	24%
di cui saturi (g)	2,1	16	13%
1. di cui monoinsaturi (g)	12,5	40	31%
1. di cui polinsaturi (g)	0,9	9	10%
Fibra alimentare (g)	4,8	23	21%
Sodio (g)	1,1	2,27	48%
Calcio (mg)	34,9	800 ^s	4%
Vit. E (mg)	0,5	12 ^s	4%



gine di oliva". La Peranzana, dalle analisi condotte, risulta la varietà con la maggiore percentuale di $\Delta 5$ -avenasterolo (circa il 16%) a differenza della Bella di Cerignola (<2%). La Cellina di Nardò e la Bella di Cerignola mostrano un elevato valore di sitostanolo (>1%).

Il contenuto in carboidrati nell'oliva è basso e diminuisce ulteriormente durante la fermentazione a opera dei microrganismi presenti nella salamoia e rappresenta all'incirca max il 2% della RDA (dose giornaliera raccomandata) (Tabelle 1-5). Un discorso a parte va fatto per i glucosidi. Nella molecola dei glucosidi contenuti nel frutto oliva è presente il glucosio che, grazie all'attività β -glucosidica della flora batterica coinvolta

nel processo di fermentazione, viene liberato e costituisce il principale substrato fermentescibile.

Nei campioni analizzati il contenuto di fibra alimentare è abbastanza elevato (3,6-4,8 g /100 g di p.e.), mentre la razione giornaliera raccomandata di fibre è pari a 23 g al giorno, con un rapporto 3/1 tra fibre insolubili e solubili (Tabelle 1-5). L'utilizzo di claims nutrizionali e salutistici è autorizzato dal Regolamento CE 1924/2006 e modifiche recentissime (Regolamento UE 116/2010). A titolo esemplificativo, per quanto riguarda le olive da tavola, se il prodotto contiene almeno 3 g di fibre per 100g (come per la maggior parte delle varietà analizzate) può essere utilizzato in etichetta il claim "FONTE DI FIBRE". Se invece il prodotto contenesse almeno 6 g di fibre per 100 g (e non si può escludere che qualche varietà li contenga) potrebbe essere addirittura utilizzato il claim "AD ALTO CONTENUTO DI FIBRE".

Il contenuto in proteine è basso (1,0-1,5g/100g di p.e.), ma la qualità nutrizionale è alta per la presenza di aminoacidi essenziali (>100mg/100g di polpa di olive: isoleucina e leucina).

Gli acidi organici sono presenti in percentuale piuttosto basse, comunque tali da conferire alla polpa delle olive un'acidità totale pari a 4-10 g/kg (espressa come acido citrico) ed un pH compreso tra 3,8 e 5. Sono stati identificati gli acidi ossalico, succinico, malico e citrico e sembra che il contenuto in acido ossalico e malico diminuisca nel corso della maturazione ed aumenti il contenuto in citrico, mentre il succinico sembra resti costante. Inoltre, il rapporto tra gli acidi malico e citrico diminuisce nel corso della maturazione fino a raggiungere, al massimo dell'inolizione, valori prossimi all'unità. Nel corso della fermentazione viene prodotto acido lattico a partire da glucosio. Analizzando le salamoie di condizionamento, il pH è risultato <4,3, limite indicato nella Norma COI (COI, 2004), nell'84% dei casi (Figura 1), mentre l'acidità libera, espressa in g di ac. lattico /100 ml di salamoia, è risultata >0,3 (limite indicato nella Norma COI) nel 97% dei casi (Figura 2).

Discreti contenuti di calcio sono stati riscontrati in alcuni campioni (58,7 mg/100 g di p.e. per la Cellina di Nardò e 83,1 mg/100 g di p.e. per la Peranzana; Tabelle 1-5). L'apporto di questo elemento, se pur trascurabile, contribuisce insieme agli altri alimenti al raggiungimento del fabbisogno giornaliero di calcio che è di 800 mg (DIRETTIVA 2008/100/CE del 28.10.2008). L'alto contenuto in sodio, riscontrabile in alcune preparazioni (1,1-1,5 g/100 g di p.e.), derivante

Tabella 6. Composizione acidica dei diversi prodotti analizzati. I valori sono espressi come media \pm SD.

Acidi Grassi %	Itrana (Bianca)	Itrana (Gaeta)	Peranzana (al naturale)	Cellina di Nardò (al naturale)	Bella di Cerignola (Siviglianc)
Acido miristico C14:0	0,0 \pm 0,0	0,0 \pm 0,0	0,0 \pm 0,0	0,0 \pm 0,0	0,0 \pm 0,0
Acido palmitico C16:0	13,6 \pm 0,9	10,1 \pm 0,7	14,7 \pm 1,6	19,6 \pm 4,7	11,4 \pm 0,4
Acido palmitoleico C16:1	1,4 \pm 0,2	1,1 \pm 0,2	1,3 \pm 0,1	1,9 \pm 0,3	0,8 \pm 0,1
Acido eptadecanoico C17:0	0,1 \pm 0,1	0,0 \pm 0,0	0,0 \pm 0,1	0,0 \pm 0,0	0,1 \pm 0,1
Acido eptadecenoico C17:1	0,1 \pm 0,1	0,1 \pm 0,0	0,1 \pm 0,1	0,0 \pm 0,0	0,1 \pm 0,1
Acido stearico C18:0	1,8 \pm 0,1	1,7 \pm 0,1	1,7 \pm 0,2	2,2 \pm 0,6	2,2 \pm 0,3
Acido oleico C18:1	76,5 \pm 1,6	80,7 \pm 1,3	70,2 \pm 5,6	70,8 \pm 4,2	79,6 \pm 0,5
Acido linoleico C18:2 ω 6	5,5 \pm 1,2	5,2 \pm 0,4	10,7 \pm 5,9	4,7 \pm 1,5	4,7 \pm 0,2
Acido arachico C20:0	0,3 \pm 0,1	0,2 \pm 0,0	0,3 \pm 0,1	0,4 \pm 0,1	0,4 \pm 0,1
Acido α -linolenico C18:3 ω 3	0,5 \pm 0,2	0,6 \pm 0,1	0,7 \pm 0,2	0,2 \pm 0,0	0,7 \pm 0,0
Acido eicosenoico C20:1	0,3 \pm 0,1	0,2 \pm 0,0	0,2 \pm 0,2	0,2 \pm 0,0	0,2 \pm 0,1
Acido behenico C22:0	0,1 \pm 0,1	0,1 \pm 0,1	0,1 \pm 0,1	0,1 \pm 0,1	0,0 \pm 0,0
Acido lignocericico C24:0	0,1 \pm 0,1	0,0 \pm 0,0	0,0 \pm 0,1	0,1 \pm 0,0	0,1 \pm 0,0
SFA	15,8 \pm 1,0	12,2 \pm 0,7	16,9 \pm 1,7	22,2 \pm 5,5	14,2 \pm 0,7
MUFA	78,3 \pm 1,5	82,1 \pm 1,1	71,8 \pm 5,5	72,9 \pm 4,0	80,5 \pm 0,6
PUFA	6,0 \pm 1,4	5,8 \pm 0,4	11,4 \pm 5,9	4,9 \pm 1,5	5,4 \pm 0,2
Oleico / Palmitico	5,6	8,0	4,8	3,6	7,0
MUFA / SFA	5,0	6,8	4,3	3,3	5,7
ω6 / ω3	11,6	9,1	15,2	23,3	6,6
PUFA/SFA	0,4	0,5	0,7	0,2	0,4
(MUFA+PUFA)/SFA	5,4	7,2	4,9	3,5	6,0

in parte dal trattamento di deamarizzazione chimica, ma soprattutto dalla salamoia di fermentazione o di conservazione, non è in contrasto con la RDA di questo elemento, che è comunque piuttosto alta (2,27 g/giorno) (Tabelle 1-5). Il consumo di olive da tavola sarebbe quindi sconsigliato solamente nei casi di ipertensione, e comunque esistono tecnologie di produzione a ridotto o nullo contenuto di sodio (olive iposodiche). Analizzando le salamoie di condizionamento, il limite di sicurezza di 6 g di NaCl/100 ml di salamoia, indicato dalla norma COI (COI, 2004) è riscontrabile solo nel 45% dei campioni analizzati (Figura 3)!

Caratterizzazione sensoriale

Alcuni dei campioni assaggiati dal Panel del CRA-OLI secondo la nuova normativa COI (COI, 2010) sono risultati difettati. I difetti più comuni sono risultati: fermentazione anomala butirrica e putrida, vinoso-inacetito e saponoso. Le sensazioni sgradevoli sono causate dalla produzione di sostanze responsabili di cattivi odori, che non sono presenti nel frutto né si formano durante i trattamenti di processo ben eseguiti. Il termine fermentazione anomala racchiude

tutte quelle sensazioni olfattive che ricordano l'odore della materia organica in decomposizione, il formaggio invecchiato, le uova marce, la morchia, derivanti dall'instaurarsi di fermentazioni parallele causate dallo sviluppo di microrganismi contaminanti. Ad esempio, la sensazione di sapone o di liscivia si riscontra soprattutto nelle olive trattate con soda (sistema sivigliano) e non sufficientemente sciacquate o consumate poco dopo la deamarizzazione. La sensazione di vinoso-inacetito ricorda il vino e l'aceto, ma può anche essere tipica di alcune preparazioni che prevedono l'utilizzo di aceto (olive Kalamata). Altri difetti riscontrabili nelle olive da tavola sono: cotto, metallico e terra. La sensazione di cotto può essere provocata da un riscaldamento troppo prolungato o troppo intenso in fase di pastorizzazione o sterilizzazione. La sensazione di metallico è invece provocata dalla presenza di ioni ferro. Si riscontra soprattutto nelle olive annerite per ossidazione e addizionate di sali ferrosi, quali il gluconato o il lattato ferroso, utilizzati come stabilizzanti del colore (sistema californiano e olive nere al forno), ma può essere percepita anche su olive conservate in confezioni di metallo. Infine, la sensazione di

Figura 1. Andamento del pH delle salamoie di condizionamento.

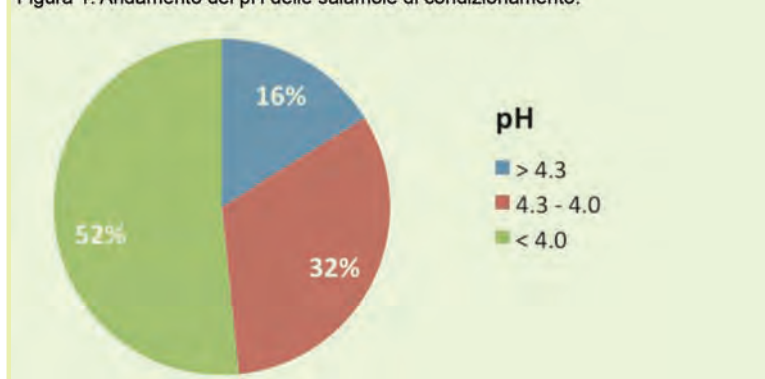


Figura 2. Andamento dell'acidità libera delle salamoie di condizionamento.

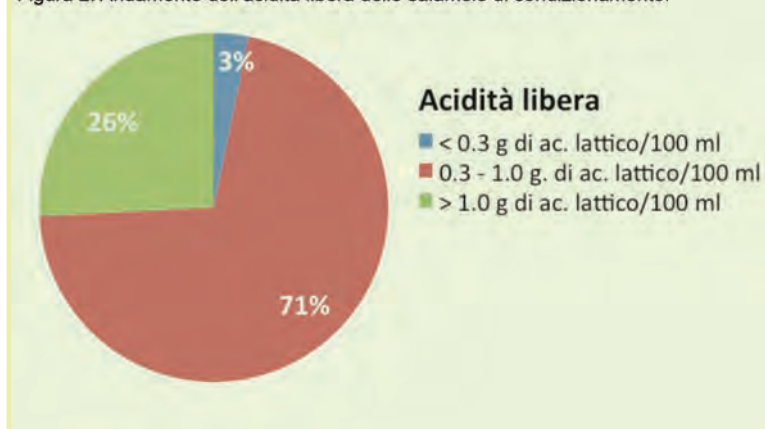
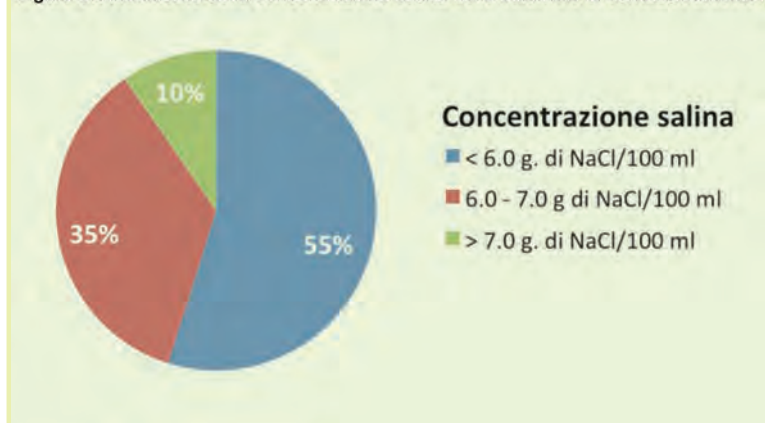


Figura 3. Andamento della concentrazione salina delle salamoie di condizionamento.



terra deriva da olive che sono state a contatto con terra e polvere per lungo tempo, solitamente raccolte dopo la loro caduta dall'albero.

Le sensazioni gustative coinvolgono zone della lingua ben distinte: la regione della lingua interessata dalla percezione del salato è quella latero-anteriore, la regione interessata dalla percezione dell'acido è quella latero-posteriore mentre la regione interessata dalla percezione dell'amaro è la base della lingua. La sensazione di salato definisce il sapore associato alle soluzioni acquose addizionate di NaCl ed è associata alla concentrazione delle salamoie di fermentazione o confezionamento. La sensazione di amaro definisce il sapore associato alla presenza di sostanze amare, principalmente polifenoli. Può quindi essere più intensa in preparazioni in cui la deamarizzazione, incompleta, non avviene per via chimica bensì per via microbiologica (sistema greco). La sensazione di acido definisce il sapore associato agli acidi naturalmente presenti o prodotti durante la fermentazione lattica ad opera di batteri lattici omo ed eterofermentanti, ma può dipendere anche da un utilizzo non appropriato di acidi quali correttori di acidità.

Con il termine "cinestetico" (dal greco κινήση = movimento e αίσθησις = sensazione) si indicano le sensazioni dovute al contatto del frutto con l'apparato boccale. Potremmo tradurlo con "percezione complessiva osseo muscolare, a livello della cavità orale, delle caratteristiche meccaniche del frutto". Le caratteristiche cinestetiche delle olive sono durezza,

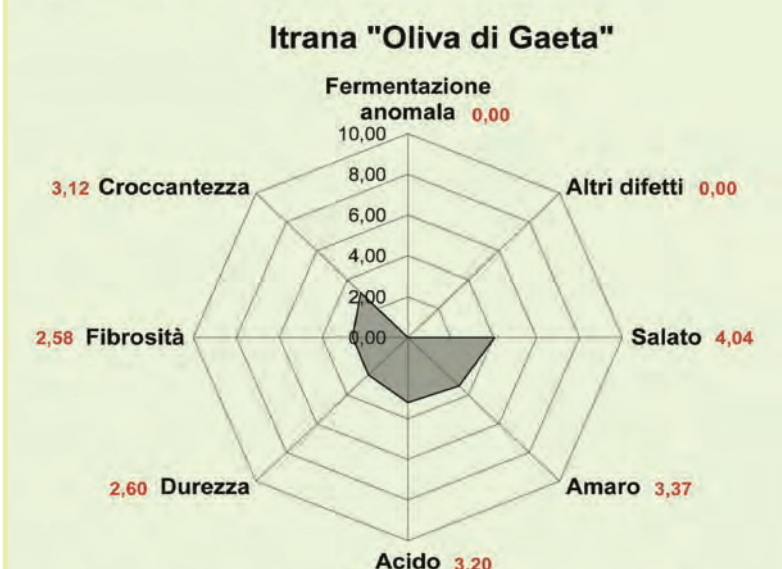
Tabella 7. Composizione sterolica dei diversi prodotti analizzati. I valori sono espressi come media ± deviazione standard.

Steroli %	Itrana (Bianca)	Itrana (Gaeta)	Peranzana (ai naturale)	Collina di Nardò (ai naturale)	Bella di Cerignola (Sivigliano)
Colesterolo	0,5±0,3	0,4±0,1	0,5±0,1	0,6±0,4	0,8±0,2
Brassicasterolo	0,1±0,1	0,0±0,0	0,0±0,1	0,0±0,0	0,1±0,1
24-Metilencolesterolo	0,1±0,1	0,1±0,1	0,2±0,0	0,2±0,2	0,0±0,0
Campesterolo	2,4±0,2	2,8±0,2	2,0±0,5	3,1±0,1	3,1±0,4
Campestanolo	0,0±0,0	0,0±0,0	0,4±0,6	0,2±0,1	0,0±0,0
Stigmasterolo	0,7±0,3	0,4±0,1	0,7±0,2	0,9±0,3	1,2±0,9
Δ ⁷ -Campesterolo	0,6±0,6	0,8±1,0	0,3±0,2	0,3±0,4	0,7±0,2
Δ ^{5,22} -Stigmastadienolo	0,0±0,0	0,0±0,0	0,0±0,0	0,1±0,1	0,0±0,0
Clerosterolo	1,0±0,2	1,0±0,3	1,2±0,8	1,0±0,3	1,5±0,9
β-Sitosterolo	88,7±1,4	87,8±1,4	77,4±3,9	85,4±3,0	89,8±1,3
Sitostanolo	0,7±0,4	0,8±0,1	0,6±0,4	2,3±0,5	1,3±0,6
Δ ⁷ -Avenasterolo	4,3±0,7	5,6±0,4	15,9±4,3	5,3±2,8	1,5±0,2
Δ ^{5,24} -Stigmastadienolo	0,6±0,2	0,4±0,3	0,5±0,2	0,7±0,0	0,1±0,1
Δ ⁷ -Stigmastenolo	0,3±0,2	0,2±0,1	0,2±0,1	0,1±0,1	0,3±0,4
Δ ⁷ -Avenasterolo	0,2±0,2	0,2±0,1	0,2±0,1	0,1±0,1	0,3±0,4
β-Sitosterolo app.	95,2±1,3	95,3±1,0	95,5±0,1	94,7±0,3	93,8±1,1

Figura 4. Profilo sensoriale del prodotto Itrana "Oliva Bianca".



Figura 5. Profilo sensoriale del prodotto Itrana "Oliva di Gaeta".



croccantezza e fibrosità. Per durezza si intende la proprietà meccanica di consistenza correlata alla forza necessaria per ottenere la deformazione o la penetrazione di un prodotto; viene percepita attraverso la compressione del prodotto tra i denti (prodotti solidi) o tra lingua e il palato (prodotti semisolidi); per quanto riguarda i prodotti solidi come le olive da tavola, la forza richiesta si valuta dapprima comprimendo il prodotto tra i denti incisivi (Hardness 1), poi tra i denti molari (Hardness 2) ed infine durante la masticazione (Hardness 3). La croccantezza è la proprietà correlata al rumore provocato dalla frizione o dalla rottura tra due superfici. Nel nostro caso, è correlata alla forza necessaria per ridurre in pezzi un prodotto con i denti ed è valutata per compressione del frutto tra i molari. La fibrosità è invece una proprietà geometrica di consistenza correlata alla percezione della forma e dell'orientamento delle fibre del tessuto cellulare; viene valutata attraverso la percezione delle fibre tra la lingua e il palato al momento della masticazione dell'oliva. Durezza, croccantezza e fibrosità possono essere valutate anche per via strumentale con test di penetrazione, compressione e stiramento, realizzati mediante Texture Analyzer.

I profili sensoriali riportati nelle Figure 4-8 si riferiscono a valori medi delle mediane dei campioni non difettati. Nelle olive trasformate con il sistema "al naturale" la sensazione di amaro viene percepita maggiormente rispetto alle olive trasformate con il sistema "sivigliano" (Bella di Cerignola), confermando l'azione deamarizzante della soda. L'itran "Oliva Bianca" e la Peranzana risultano

Figura 6. Profilo sensoriale del prodotto Peranzana "al naturale".

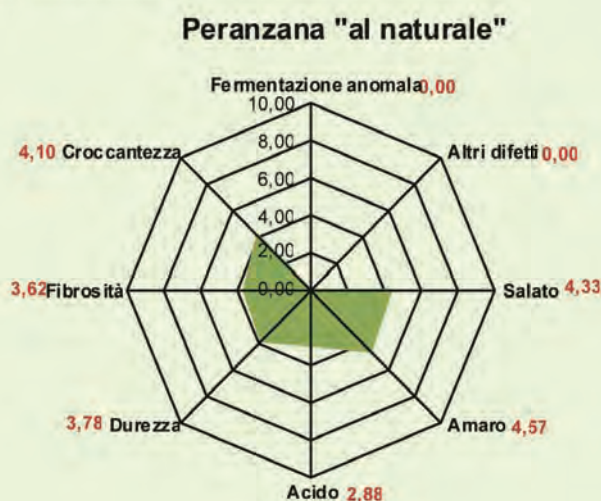


Figura 7. Profilo sensoriale del prodotto Cellina di Nardò "al naturale".

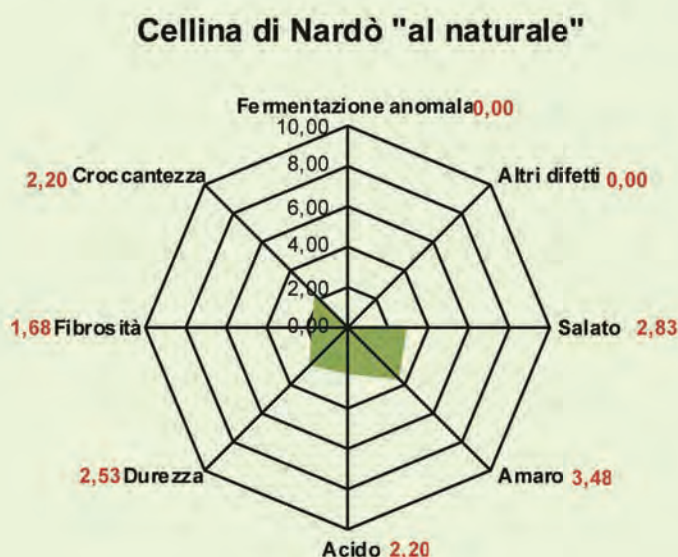


Figura 8. Profilo sensoriale del prodotto Bella di Cerignola "sivigliano".



prodotti dalle caratteristiche cinestetiche durezza, fibrosità e croccantezza più accentuate al contrario della Cellina di Nardò. I due prodotti ottenuti dalla cv. Itrana si differenziano dagli altri per una spiccata sensazione di acido, che li caratterizza.

Discussioni e conclusioni

L'analisi dei dati ottenuti dalla caratterizzazione nutrizionale e sensoriale dei diversi prodotti ci consentirà di individuare i punti critici di ciascuna filiera (es: tempi lunghi di fermentazione, pastorizzazione), rimuovere pratiche errate, standardizzare la metodologia, introdurre tecnologie innovative (es: impiego di starter selezionati) e realizzare un'etichetta nutrizionale che esalti le caratteristiche di qualità dei differenti prodotti. L'introduzione di un'etichetta nutrizionale e sensoriale, pur facoltativa, apporterebbe valore aggiunto ai nostri prodotti. Quali informazioni ci aspettiamo di trovare in un'etichetta nutrizionale di un vasetto di olive? Attualmente la predisposizione di un'etichetta nutrizionale è regolamentata dal D.lvo. 77/1993 (attuazione della Direttiva 90/496/CEE) e successive modifiche e aggiornamenti (D.M. 18.3.2009 che recepisce la Direttiva 2008/100/CE). Le informazioni riportate in etichetta andrebbero riferite a 100 g di prodotto: nel caso di olive intere si potrebbe far riferimento a 100 g di prodotto sgocciolato (quindi considerando il nocciolo anche se non commestibile) oppure 100 g di porzione edibile (in questo caso solo polpa di olive). Per olive denocciolate o patè il problema non si pone. nel nostro caso 100 g di polpa di oliva). Le informazioni nutrizionali potrebbero essere riferite anche ad una porzione o "serving size", determinata in base alla quantità di alimento generalmente consumata da una persona che ovviamente varia da alimento ad alimento. Per le olive da tavola una porzione potrebbe essere costituita da circa 10 olive di media pezzatura ed espressa in grammi (tenendo conto anche del peso del nocciolo). E' utile, inoltre, riportare il contenuto di ciascun nutriente al valore giornaliero di riferimento riferito ad una dieta da 2000 kcal per una persona adulta di corporatura media che svolga un'attività fisica limitata. Percentuali superiori al 20% sono da considerarsi notevoli, al di sotto del 5% modeste.

In conclusione, possiamo affermare che tutte le nostre olive sono risultate un alimento con un alto valore nutritivo, grazie all'apporto bilanciato di acidi grassi, in cui predominano i MUFA, e il loro consumo contribuisce all'apporto di fibra alimentare, aminoacidi essenziali, polifenoli, vitamine e sali minerali.

Normativa sull'argomento:

1. CODEX ALIMENTARIUS (1987). Codex Standard for Table Olives, CODEX STAN 66-1981 (Rev. 1-1987).
2. COI (2010). Method for the Sensory Analysis of Table Olives, COI/OT/MO No 1/Rev. 1 Decision No DEC-21/98/V/2010, Madrid, Spain: International Olive Oil Council.
3. COI (2004). Trade Standard Applying to Table Olives, COI/OT/NC No 1 December 2004, Madrid, Spain: International Olive Oil Council.
4. LARN (1996). Livelli di assunzione raccomandati di energia e nutrienti per la popolazione italiana.
5. D.Lvo. n.77 del 16.2.1993, Attuazione della direttiva 90/496/CEE del Consiglio del 24.9.1990 relativa all'etichettatura nutrizionale dei prodotti alimentari.
6. D.M. 18.3.2009 che recepisce la Direttiva 2008/100/CE del 28.10.2008.
7. REGOLAMENTO (CE) n. 1924/2006 del 20.12.2006 relativo alle indicazioni nutrizionali e sulla salute fornite sui prodotti alimentari.
8. REGOLAMENTO (UE) n. 116/2010 del 9.2.2010 che modifica il Reg. CE n. 1924/2006 per quanto riguarda l'elenco di indicazioni nutrizionali.
9. REGOLAMENTO (CEE) n. 2568/1991.
10. REGOLAMENTO (CE) n. 796/2002.

RINGRAZIAMENTI

Si ringraziano i responsabili delle Aziende aderenti al progetto e i tecnici Nazario Derrico, Giovanni D'Achille, Genesisio Leonardi e Alberto Bono per la loro disponibilità nel reperimento dei campioni.

BIBLIOGRAFIA.

1. B. Lanza, Poiana M. Olive da tavola: tecnologia. Collana Divulgativa dell'Accademia Nazionale dell'Olio e dell'Olio, Vol. XVII, (2011).
2. B. Lanza. Enhancement of Italian traditional preparations of table olives and their nutraceutical properties. Olivebioteq 2011, Workshop on table olive processing, Chania, Crete, Greece (2011).
3. M. Zago, B. Lanza, L. Rossetti, F. Russi, E. Iannucci, M.G. Di Serio, I. Muzzalupo, D. Carminati, G. Giraffa. Selection of *Lactobacillus plantarum* strains for starter production in table olive fermentation. LAB10, Egmond aan Zee, The Netherlands (2011).
4. B. Lanza, M. Zago, D. Carminati, L. Rossetti, A. Meucci, P. Marfisi, F. Russi, E. Iannucci, M.G. Di Serio, G. Giraffa. Isolation and preliminary characterization of *Lactobacillus plantarum* bacteriophages from table olive fermentation. *Ann. Microbiol.* Published online: 24 December 2011.
5. G. Blekas, C. Vassilakis, C. Harizanis, M. Tsimidou, D.G. Boskou. Biophenols in table olives. *J. Agric. Food Chem.* 50: 3688–3692 (2002).
6. A. Jimenez, R. Rodriguez, I. Fernandez-Caro, R. Guillen, J. Fernandez-Bolanos, A. Heredia. Dietary fibre content of table olives processed under different European styles: study of physico-chemical characteristics. *J. Sci. Food Agric.* 80:1903-1908 (2000).
7. A. Garrido-Fernandez. Revalorización nutricional de la aceituna de mesa. II Jornadas Internacionales de la aceituna de mesa. Dos Hermanas, Sevilla, Spain. (2008).
8. B. Lanza. L'Itrana non è solo nera. Le sei tipologie tradizionali. *Olio e Olio.* 9:44-48 (2010).
9. B. Lanza, M.G. Di Serio, E. Iannucci, F. Russi, P. Marfisi. Nutritional, textural and sensorial characterisation of Italian table olives (*Olea europaea* L. cv. 'Intosso d'Abruzzo'). *Int. J. Food Sci. Technol.* 45:67-74 (2010).
10. A. Lopez-Lopez, A. Montano, A. Garrido-Fernandez. Nutrient profiles of commercial table olives: fatty acids, sterols, and fatty alcohols. In: *Olives and olive oil in health and disease prevention.* Elsevier, San Diego, CA. pp 715-723 (2010).
11. A. Lopez-Lopez, A. Montano, A. Garrido-Fernandez. Nutrient profiles of commercial table olives: proteins and vitamins. In: *Olives and olive oil in health and disease prevention.* Elsevier, San Diego, CA. pp 705-714 (2010).
12. V. Marsilio, C. Campestre, B. Lanza, M. De Angelis. Sugar and polyol compositions of some European olive fruit varieties (*Olea europaea* L.) suitable for table olive purposes. *Food Chem.* 72:485-490 (2001).
13. V. Marsilio, C. Campestre, B. Lanza, M. De Angelis, F. Russi. Sensory analysis of green table olives fermented in different saline solutions. *Acta Horticulturae*, 586: 617-620 (2000).
14. A. Montano, A.H. Sanchez, A. Lopez-Lopez, A. de Castro, L. Rejano. Chemical composition of fermented green olives: acidity, salt, moisture, fat, protein, ash, fiber, sugar and polyphenol. In: *Olives and olive oil in health and disease prevention.* Elsevier, San Diego, CA. pp 291-297 (2010).
15. K. Ünala, C. Nergizb. The effect of table olive preparing methods and storage on the composition and nutritive value of olives. *Grasas y Aceites*, 54:71-76 (2003).
16. G. Bianchi. Lipids and phenols in table olives. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 105, 229-242 (2003).
17. U. Cannata. Potenzialità nutritiva dell'oliva da mensa. *L'Italia vinicola ed agraria*, 12, (1939).
18. A. Garrido-Fernandez, M.J. Fernandez Diez, M.R. Adams. *Table Olives. Production and processing.* London, UK: Chapman & Hall (1997).
19. B. Lanza, A. Corsetti. Olive da mensa. In: *L'Ulivo e l'Olio, Collana Coltura & Cultura.* Bayer CropScience, Ed. Script, Bologna, pp: 635-655 (2009).
20. B. Lanza, M.G. Di Serio, F. Russi, G. D'Achille, G. Leonardi. Organoleptic profile of Itrana table olives by IOC Method for the sensory analysis. *Atti del: III International Table Olive Conference, Sanlucar La Mayor, Seville, Spain*



(2010).

21. B. Lanza, M.G. Di Serio, F. Russi, E. Iannucci. Un "nuovo" alimento funzionale e nutraceutico. *Olivo e Olio*. 7-8: 42-45 (2009).
22. B. Lanza. Valutazione organolettica. Ora c'è il nuovo metodo COI. *Olivo e Olio*. 7-8: 46-50 (2009).
23. B. Lazovic, K. Miranovic, O. Gasic, M. Popovic. Olive protein content and amino acid composition. *Acta Horticulturae*, 474 (1999).
24. V. Marsilio, B. Lanza. Effects of lye-treatment on the nutritional and microstructural characteristics of table olives (*Olea europaea* L.). *Food Sci. Technol. Int. (Rev. Esp. Cienc. Tecnol. Aliment.)* 35: 178-190 (1995).
25. C. Romero, M. Brenes, K. Yousfi, P. Garcia, A. Garcia, A. Garrido. Effect of cultivar and processing method on the contents of polyphenols in table olives. *J. Agric. Food Chem.* 52: 479-484 (2004).
26. F. Sakouhi, S. Harrabi, C. Absalon, K. Sbei, S. Boukhchina, H. Kallel. α -tocopherol and fatty acids contents of some Tunisian table olives (*Olea europaea* L.): changes in their composition during ripening and processing. *Food Chemistry*, 108, 833-839 (2008).
27. N. Lombardo, M. Alessandrino, G. Godino, A. Madeo, A.M. Caravita. Da olio e tavola. L'oliva e multifunzionale. *Olivo e Olio*, 9: 52-58 (2006).
28. N. Lombardo, M. Alessandrino, G. Godino, A. Madeo, A.M. Caravita. Duplice attitudine. Le principali varietà. *Olivo e Olio*, 1: 42-48 (2007).
29. N. Lombardo, M. Alessandrino, G. Godino, A. Madeo, A. Ciliberti. Buone solo per la tavola. Le varietà a confronto. *Olivo e Olio*, 1: 38-41 (2007).

Identificazione, tipizzazione molecolare e caratterizzazione biotecnologica di batteri lattici e lieviti di olive da tavola fermentate al naturale

ABSTRACT

*In recent years the interest in developing starter cultures for table olive fermentation is increasing. In this work, 75 lactic acid bacteria (LAB) and 122 yeasts isolated from six different Italian cultivars of table olives (Itrana Bianca, Itana Nera, Peranzana, Nocellara del Belice, Cellina di Nardò and Bella di Cerignola) at the end of the fermentation process were subjected to a genotypic and a technological characterization. In particular, the identity of LAB isolates was obtained by a multiplex PCR for the simultaneous distinction of *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus pentosus* and *Lactobacillus paraplantarum* and sequencing of the 16S rDNA gene. A rep-PCR using primer (GTG)₅ was applied for LAB molecular typing. Yeasts were identified by a polyphasic approach including 26S rDNA gene sequencing and RAPD fingerprinting. The obtained results showed that *Lb. pentosus* and *Saccharomyces cerevisiae* were the main species detected. Then, biochemical activities of technological interest were addressed for all the isolates. In particular, LAB were investigated for β -glucosidase activity and for the ability to grow at different concentration of NaCl (6%, 8%, 10%, 12%) and in a synthetic brine (glucose 3 g/l, yeast extract 0.5 g/l, NaCl 6% w/v, pH 6); while yeasts strains were tested for β -glucosidase, peroxidase and pectinolytic activity. Regarding LAB strains, 27% showed a β -glucosidase activity, 90% were able to grow in brine and 100% grew in the presence of NaCl 6%. All the yeast strains showed peroxidase activity and none of them add pectinolytic activity. Only few strains demonstrated a β -glucosidase activity. The obtained results show the potential use of some yeast and LAB strains as starters, alone or in combination, to direct the olive processing.*

INTRODUZIONE

Le olive da tavola rappresentano un prodotto, largamente diffuso nel bacino del Mediterraneo, il cui mercato è in continua espansione, sia in termini di produzione che di consumi. L'Italia, a livello europeo, occupa il terzo posto con una produzione pari a 68.000 t [1]. La qualità delle olive da tavola è una variabile molto complessa, dipendente oltre che dalle caratteristiche genetiche delle varietà, dall'ambiente di coltivazione e dalle condizioni di processo. Uno degli aspetti più rilevanti nella preparazione delle olive da tavola attiene al processo di deamarizzazione, consistente essenzialmente nell'allontanamento dell'oleuropeina, responsabile del sapore amaro del frutto, principalmente mediante due sistemi: il metodo Sivigliano o Spagnolo ed il metodo Greco o Naturale. Il primo, specifico per il trattamento delle olive verdi, è basato sull'utilizzo di soluzioni di idrossido di sodio; contrariamente, il metodo Greco, applicato in genere (ma non solo) alle olive nere raccolte a completo stato di maturazione, prevede specifiche reazioni enzimatiche ad opera di diversi microrganismi indigeni [2]. La fermentazione, secondo quest'ultimo sistema, infatti, si basa su un equilibrio caratteristico tra batteri lattici (Lactic Acid Bacteria, LAB) e lieviti responsabili, rispettivamente, della fermentazione lattica ed alcolica [3]. La prevalenza di un gruppo microbico rispetto ad un altro dipende da diversi fattori tecnologici, quali concentrazione di sale e pH della salamoia, disponibilità di ossigeno,



diffusione di nutrienti dalla drupa e temperatura di fermentazione [4, 5]. In genere, uno “squilibrio” tra LAB e lieviti può influenzare in modo marcato le caratteristiche organolettiche e fisico-chimiche del prodotto finale.

Il ruolo dei LAB si estrinseca attraverso la produzione di acido lattico che, acidificando il prodotto, ne assicura la stabilità microbiologica durante la conservazione; inoltre, essi determinano le caratteristiche reologiche e sensoriali del prodotto fermentato [6, 7]. Le condizioni principali per la riuscita di un’ottima fermentazione lattica sono individuabili nella presenza di una sufficiente concentrazione di carboidrati fermentescibili, una ridotta pressione parziale di ossigeno e un’adeguata resistenza nei confronti dell’inibizione da polifenoli. Le specie riscontrate con maggiore frequenza nelle olive da tavola sono rappresentate da *Lactobacillus pentosus* e *Lactobacillus plantarum* [8, 9] e, seppur in minor numero, da altre specie di lattobacilli tra cui *Lactobacillus casei*.

I lieviti invece, scarsamente presenti sulla superficie delle olive [10], sono caratterizzati da un’elevata variabilità associata al grado di maturazione del frutto [11]. Essi favoriscono lo sviluppo dei LAB, hanno attività killer [12], degradano i composti fenolici [13] e producono composti aromatici e metaboliti che influenzano le caratteristiche organolettiche del prodotto. Tuttavia, questi stessi microrganismi, possono essere responsabili di alcune alterazioni, tra le quali il rammollimento del prodotto. In generale, *Candida boidinii*, *Candida diddensiae*, *Wickerhamomyces anomalus*, *Pichia kluyveri*, *Pichia membranefaciens* e *Saccharomyces cerevisiae* sono le specie più frequentemente isolate dalle olive da tavola [14, 15].

Pertanto, appare evidente che conoscere la composizione e la dinamica dei gruppi microbici nelle olive da tavola può essere utile per l’ottenimento di un prodotto di alta qualità, ma anche per la formulazione di colture starter. Tuttavia, a differenza di quanto avviene in altri settori, l’impiego di colture di batteri lattici e lieviti starter per la produzione di olive da tavola non è ancora molto diffuso, anche se è documentato come esso possa ridurre i rischi di deterioramento microbico e migliorare, anche abbreviandolo, il processo produttivo. La mancata standardizzazione del processo fermentativo, infatti, può comportare problemi sia dal punto di vista della sicurezza alimentare (es. sviluppo di batteri patogeni) che della qualità sensoriale del prodotto (fenomeni alterativi dovuti a fermentazioni incontrollate).

Sulla base di quanto premesso, lo scopo del presente lavoro è stato di mettere in risalto il microbiota di sei cultivar di olive da tavola provenienti da aziende artigianali situate nelle regioni Lazio, Puglia e Sicilia. Successivamente alla valutazione quantitativa dei gruppi microbici è stata eseguita una valutazione qualitativa dei batteri lattici e dei lieviti presenti. Inoltre, al fine di selezionare colture starter individuali o miste da impiegare per la gestione guidata del processo di trasformazione delle olive da tavola, i ceppi di LAB e lieviti sono stati sottoposti ad una preliminare caratterizzazione biotecnologica per evidenziare i caratteri funzionali al processo di fermentazione.

Materiali e Metodi

Origine dei campioni

Le analisi sono state condotte su olive (e rispettive salamoie) appartenenti a 6 campioni di diverse cultivar italiane (Itrana Bianca e Itrana Nera, Peranzana, Cellina di Nardò, Bella di Cerignola, Nocellara del Belice) lavorate con il metodo naturale e pronte per essere commercializzate. Tutti i campioni sono stati sottoposti ad analisi fisico-chimiche e microbiologiche.

Le analisi sono state effettuate in doppio ed i risultati riportati sono espressione del valore medio ottenuto.

Caratterizzazione fisico-chimica

Il pH è stato determinato mediante pH-metro Mettler Toledo MP220 (Mettler-Toledo, Spagna). Per la determinazione dell’attività dell’acqua (a_w) è stato impiegato un igrometro a punto di

rugiada AquaLab Decagon (Pullman, Washington, USA).

Analisi microbiologiche

Le analisi microbiologiche sono state eseguite sia sulle olive che sulle rispettive salamoie. Per ogni campione 10 g di oliva (25 ml di salamoia) sono stati diluiti in soluzione fisiologica sterile (0,85% NaCl) ed omogeneizzati in Stomacher Lab-Blender 400 (Steward Medical, London UK). Sono stati determinati i seguenti gruppi microbici: carica mesofila aerobia (Plate Count Agar), a 30°C per 48 ore; enterococchi (Slanetz-Bartley Agar), a 37°C per 48 ore; *Enterobacteriaceae* (Violet Red Bile Glucose Agar), a 37°C per 24 ore; lieviti e muffe (YPD – 1% estratto di lievito, 2% peptone, 2% glucosio, 2% agar, addizionato di 150 mg/l di cloramfenicolo) a 30°C per 3 e 5 giorni, rispettivamente; stafilococchi coagulasi-negativi (Baird Parker Agar Base, addizionato di Egg Yolk Tellurite Emulsion) a 37°C per 48 ore; *Pseudomonadaceae* (Pseudomonas Agar Base, addizionato di Pseudomonas CFC) a 25°C per 48-72 ore; lattobacilli mesofili e termofili (MRS) addizionato di 170 mg/l di cicloeximide (Sigma-Aldrich, Milano, Italia) a 30 e 37°C, rispettivamente, per 72 ore in condizioni di microaerofilia.

Inoltre, è stata determinata la ricerca dei seguenti patogeni: *Salmonella* spp., *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli* O157:H7 [16, 17, 18].

Tutti i substrati e i supplementi utilizzati sono stati acquistati dalla ditta Oxoid (Milano, Italia).

Identificazione e tipizzazione di batteri lattici

Dopo l'esecuzione della conta vitale, dalle piastre di MRS corrispondenti alle diluizioni più elevate, colonie rappresentative delle differenti morfologie sono state purificate in MRS agar e conservate a -80°C, utilizzando glicerolo (Sigma-Aldrich) (25% v/v) come crioprotettivo. L'identificazione degli isolati in coltura pura è stata condotta mediante un approccio fenotipico, mediante test routinari (osservazione microscopica, colorazione di Gram, crescita a diverse temperature, produzione di ammoniaca da arginina, produzione di CO₂). Successivamente, i LAB sono stati sottoposti ad identificazione genotipica e tipizzazione molecolare. L'estrazione del DNA genomico dagli isolati è stata eseguita in accordo con de Los Reyes-Gavilán et al. [19]. Una multiplex PCR basata su recA è stata eseguita sui DNA per identificare gli isolati appartenenti alle specie del gruppo *Lb. plantarum* (*Lb. plantarum*, *Lactobacillus paraplantarum* e *Lb. pentosus*) in accordo con Torriani et al. [20]. Per gli isolati che non hanno generato alcun amplicone in seguito a multiplex-PCR, è stata eseguita l'amplificazione della regione 16S rDNA. La composizione della miscela di reazione e le condizioni di amplificazione sono state eseguite in accordo con Corsetti et al. [21]. I prodotti di PCR sono stati inviati al centro di sequenziamento BMR Genomics dell'Università di Padova. Le sequenze così ottenute sono state allineate in GeneBank con il programma Blast (Basic Local Alignment Search Tool) [22] e i risultati dell'analisi hanno fornito indicazioni utili per l'identificazione degli isolati. Successivamente, la tipizzazione degli isolati è stata eseguita mediante una rep-PCR impiegando il primer (GTG)₅ (5'-GTGGTGGTGGTGGT-3') in accordo con Gevers et al. [23]. La miscela di reazione (20 µl) è stata costituita da 1,25 mmol/l di ciascun deossinucleotide trifosfato, 6,0 mmol/l MgCl₂, 2,0 µmol/l del primer (GTG)₅, 1 U/20 µl Taq (Invitrogen, Milano, Italia), 1x PCR buffer (Invitrogen), e 20 ng di DNA target. L'amplificazione è stata eseguita in un termociclatore Perkin-Elmer GeneAmp PCR System 2400 ed ha previsto: 30 cicli di denaturazione a 94°C per 1 minuto, 40°C per 20 sec., 72°C per 8 min., ed uno step finale di 72°C per 15 min. Il ciclo è stato inoltre caratterizzato da una denaturazione iniziale a 94°C per 5 min.

I prodotti della rep-PCR sono stati visualizzati mediante corsa elettroforetica su gel di agarosio (1,5% p/v). La conversione, la normalizzazione e il confronto dei profili ottenuti sono stati effettuati mediante il software Fingerprinting II Informatix™ (Bio-Rad, Milano, Italia). La similarità è stata calcolata utilizzando il coefficiente di Pearson e l'algoritmo UPGMA (Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Averages).



Identificazione e tipizzazione di lieviti

Dopo la conta vitale, dalle piastre contabili di YPD sono stati isolati 122 lieviti. In seguito ad ottenimento della coltura pura, gli isolati sono stati conservati a -80°C impiegando come crioprotettivo il glicerolo (25% v/v) (Sigma-Aldrich). Gli isolati sono stati inizialmente sottoposti ad una caratterizzazione fenotipica (osservazione microscopica, produzione di spore, fermentazione ed assimilazione di zuccheri e sostanze azotate) in accordo con Barnett et al. [24]. Successivamente, sono stati sottoposti a caratterizzazione molecolare. L'estrazione del DNA genomico è stata effettuata, in accordo con Querol et al. [25]. È stata, quindi, eseguita una RAPD-PCR impiegando il primer M13 (5'-GAG GGT GGC GGT TCT-3'). Nella miscela di reazione (25 μL) sono stati usati buffer $1\times$ (Invitrogen), 1,5 mM MgCl_2 (Invitrogen), 200 μM di ciascun deossinucleotide trifosfato, 20 pmol del primer, 1 U/20 μL di Taq polimerase (Invitrogen) e 20 ng di DNA target. Il programma di amplificazione comprendeva: 40 cicli di denaturazione a 94°C per 1 min., 45°C per 20 sec., 72°C per 2 min., uno step finale di 72°C per 2 min. Il ciclo è stato inoltre caratterizzato da una denaturazione iniziale a 95°C per 5 min, e un'estensione finale a 72°C per 10 min.

I prodotti della RAPD-PCR sono stati visualizzati mediante corsa elettroforetica su gel di agarosio (1,5% p/v). La conversione, la normalizzazione e il confronto dei profili ottenuti sono stati eseguiti come riportato per i LAB. Dopo la suddivisione in cluster basata sul livello di similarità genetica tra gli isolati, per attribuire la specie è stato eseguito il sequenziamento della regione D1/D2 del gene 26S per i ceppi rappresentativi. Pertanto, è stata amplificata e sequenziata la regione D1/D2 del 26S rDNA con i primer NL1 e NL4 in accordo con Kurtzman e Robnett [26] e successivamente l'amplicone ottenuto (circa 600 pb) è stato sequenziato. Le sequenze ottenute sono state allineate in GeneBank con il programma Blast al fine di realizzare l'identificazione dei ceppi.

Caratterizzazione tecnologica di batteri lattici e lieviti

Al fine di individuare i ceppi più adatti per la fermentazione e deamarizzazione biologica delle olive da tavola, i ceppi di LAB e lieviti sono stati sottoposti a caratterizzazione biotecnologica. In particolare, nel caso dei LAB è stata valutata la capacità di crescita in presenza di diverse concentrazioni di NaCl (6-8-10-12%) e in salamoia modificata (glucosio 3 g/L, estratto di lievito 0,5 g/L, NaCl 6% p/v, pH 6). La crescita è stata valutata misurando la densità ottica mediante il Microbiology Reader Bioscreen C (M-Medical S.r.l., Italia). Inoltre, è stata valutata l'attività β -glucosidasi in accordo con Randazzo et al. [27].

I lieviti, invece, sono stati valutati per l'attività β -glucosidasi, come riportato da Rosi et al. [28], l'attività pectinolitica in accordo con Vaughan et al. [29], e l'attività perossidasi mediante contatto con H_2O_2 al 3% (v/v) [30].

Risultati

Origine dei campioni

I campioni di olive da tavola, e le rispettive salamoie, sono stati prelevati alla fine del periodo di fermentazione per eseguire una caratterizzazione fisico-chimica e microbiologica. Tutti i campioni di olive erano stati sottoposti, presso le rispettive aziende, a fermentazione naturale. Nel caso della Peranzana sono stati analizzati 2 campioni, poiché provenienti da due diversi produttori. In particolare le varietà e la provenienza dei campioni di olive da tavola analizzati sono riportati in Tabella 1.

Analisi fisico-chimiche e microbiologiche

La determinazione del pH è stata effettuata sia sulle olive che sulle rispettive salamoie. I valori di pH erano compresi tra 3,98 e 4,50 per la polpa delle olive (Tabella 1) e 4,01 and 4,51 per le rispettive salamoie (dati non mostrati). L'ottenimento di valori di pH corrispondenti o inferiori a 4,5 al termine del processo fermentativo è importante al fine di assicurare la stabilità micro-

Tabella 1 – Caratteristiche delle cultivar di olive da mensa analizzate

Cultivar	Stato di maturazione	Origine	pH	a _w	NaCl (%)
Itrana Bianca	Verde	Lazio	4,15	0,989	7
Itrana Nera			4,00	0,981	
Peranzana 1	Nera	Puglia	4,16	0,984	7,5
Peranzana 2			4,20	0,979	
Cellina di Nardò	Verde	Sicilia	4,50	0,982	10
Bella di Cerignola			4,31	0,984	
Nocellara del Belice			3,98	0,971	

biologica del prodotto durante la conservazione. I valori di a_w , come si può osservare dalla Tabella 1, erano compresi tra 0,968-0,984 per la polpa e 0,971-0,989 per le salamoie (dati non mostrati).

La composizione microbiologica delle olive da tavola e delle rispettive salamoie è riportata nelle Tabelle 2 e 3, rispettivamente. In particolare, la carica mesofila aerobia è risultata compresa tra 4,9 (Peranzana 1) e 5,95 log ufc/g (Nocellara del Belice) nella polpa, mentre tra 6,17 (Itrana Nera) e 7,93 log ufc/ml (Bella di Cerignola) nelle salamoie. Simili risultati sono stati ottenuti per i lieviti e i lattobacilli. Per quanto riguarda gli enterococchi, le conte erano comprese tra 2,3 e 3,6 log ufc/g nelle polpe e tra 3,5 e 3,8 log ufc/ml nelle salamoie. Enterobacteriaceae e stafilococchi coagulasi negativi sono risultati non rilevabili (<102 ufc/ml o g) in tutti i campioni analizzati. Per quanto riguarda i patogeni, tutti i campioni si sono caratterizzati per l'assenza di *Salmonella* spp., *L. monocytogenes* ed *E. coli* O157:H7.

Tabella 2. Principali gruppi microbici rilevati sulla polpa delle diverse cultivar di olive al termine della fermentazione

Gruppi microbici (log cfu/g)	Cultivar						
	Itrana bianca	Itrana nera	Peranzana 1	Peranzana 2	Nocellara del Belice	Cellina di Nardò	Bella di Cerignola
Carica mesofila aerobia	5,71±0,55*	4,94±0,37	4,88±0,31	5,11±0,98	5,85±0,50	5,76±0,48	5,41±0,44
Lieviti	4,93±0,39	4,85±0,36	4,24±0,20	4,75±0,64	5,14±0,23	5,52±0,40	5,78±0,45
Lattobacilli mesofili	5,18±0,31	4,07±0,23	3,89±0,27	4,50±0,55	5,57±0,47	5,09±0,27	5,87±0,33
Enterococchi	3,35±0,43	2,30±0,28	2,80±0,05	2,49±0,39	3,62±0,21	3,53±0,15	3,19±0,04

*I risultati sono espressi come media ± deviazione standard



Tabella 3. Principali gruppi microbici rilevati nella salamoia delle diverse cultivar di olive al termine della fermentazione

Gruppi microbici (log cfu/ml)	Cultivar						
	Itrana Bianca	Itrana nera	Peranzana 1	Peranzana 2	Nocellare del Belice	Cellina di Nardò	Bella di Cerignola
Carica mesofila aerobia	6,70±0,29*	6,17±0,53	6,67±0,43	7,12±0,26	7,15±0,21	6,64±0,36	7,93±0,24
Lieviti	6,67±0,44	6,71±0,21	6,50±0,42	7,05±0,41	7,56±0,43	6,87±0,61	7,28±0,51
Lattobacilli mesofili	6,56±0,31	6,25±0,21	6,31±0,19	6,84±0,37	7,19±0,29	6,56±0,34	7,84±0,32
Enterococchi	3,69±0,05	3,59±0,01	3,49±0,04	3,73±0,07	3,65±0,04	3,60±0,23	3,83±0,06

*I risultati sono espressi come media ± deviazione standard

Identificazione e tipizzazione molecolare di batteri lattici e lieviti

La fase successiva del lavoro è stata dedicata all'identificazione delle specie prevalenti nelle olive da tavola delle diverse cultivar. In particolare, sono stati sottoposti ad identificazione e tipizzazione molecolare gli isolati di LAB e lieviti.

Per quanto riguarda i LAB, 75 isolati, dopo una caratterizzazione fenotipica, sono stati sottoposti a multiplex-PCR che ha consentito di identificare in maniera univoca gli isolati appartenenti al gruppo *Lb. plantarum*: il 57% è risultato appartenere alla specie *Lb. pentosus* in quanto ha generato un prodotto di PCR pari a 218 pb, mentre il 24% è risultato appartenere a *Lb. plantarum*. Dall'analisi del sequenziamento del 16S è stato possibile identificare anche altre specie minoritarie come *Lactobacillus fermentum* e *Lactobacillus helveticus*.

La tipizzazione dei ceppi è stata eseguita mediante rep-PCR. L'analisi dei profili elettroforetici è riportata in Fig.1. Come si può osservare, considerando una similarità arbitraria tra il 70 e l'80%, è stato possibile individuare diversi cluster principali, all'interno dei quali alcuni ceppi hanno formato sottogruppi in base all'origine. Questo lascia presupporre, anche se l'ipotesi necessita di ulteriori verifiche, la presenza di ceppi specifici in particolari nicchie di

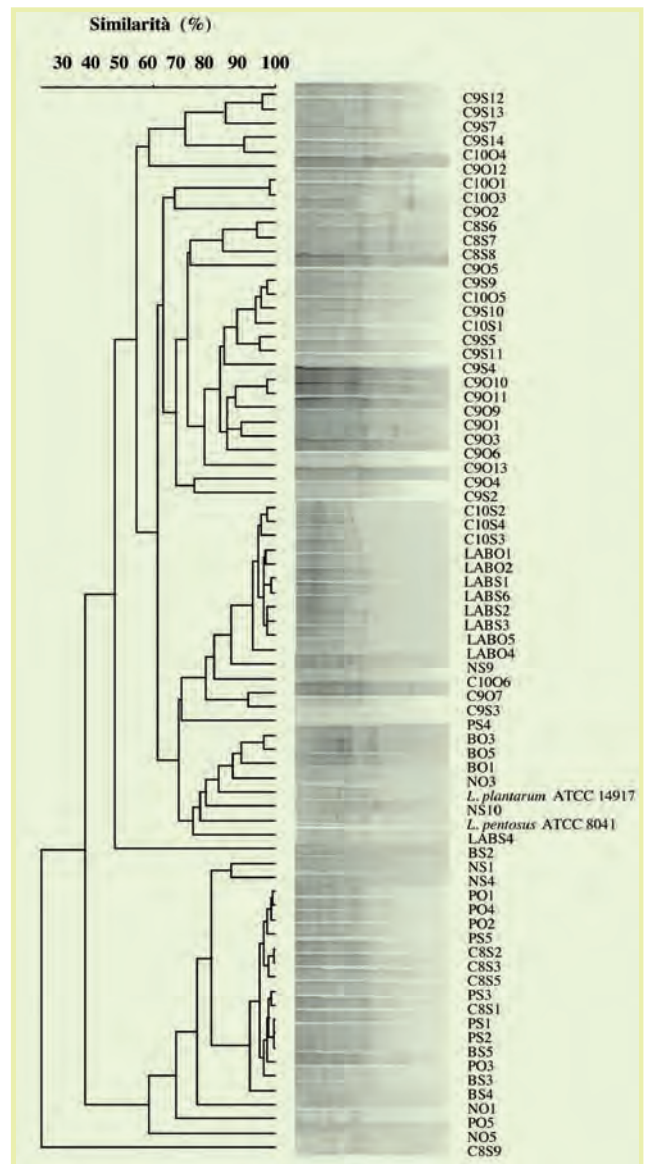


Figura 1. Dendrogramma ottenuto dall'analisi dei profili elettroforetici generati con primer (GTG)₅ per gli isolati di batteri lattici. I ceppi di tipo di *L. plantarum* e di *L. pentosus* sono stati inseriti per il confronto.

fermentazione. L'applicazione della rep-PCR, utile per la distinzione dei batteri a livello di ceppo, è stata utilizzata in studi precedenti anche per valutare la presenza e la capacità di sopravvivenza di ceppi starter di *Lb. pentosus* nella produzione di olive spagnole [31, 32].

Per quanto riguarda i lieviti, è stata applicata la tecnica RAPD-PCR come analisi preliminare su tutti gli isolati, in modo da individuare biotipi simili e ridurre notevolmente il numero di isolati da sottoporre, in un secondo momento, all'identificazione tramite sequenziamento del 26S rDNA. L'analisi numerica dei profili elettroforetici ha permesso di ottenere il dendrogramma riportato in Fig. 2, sulla base del quale sono stati selezionati 39 profili RAPD corrispondenti ad altrettanti ceppi da sottoporre al sequenziamento del 26S rDNA. Nonostante tale molecola, infatti sia una regione altamente conservata, essa contiene dei domini variabili che consentono una differenziazione a livello di specie [26]. È stata amplificata la regione D1/D2 del 26S rRNA, sequenziata e confrontata on line con le sequenze del database EMBL. Tutte le sequenze hanno mostrato una similarità compresa tra il 99 e il 100%. Le specie identificate sono state *S. cerevisiae*, *W. anomalus*, *C. boidini*, *Candida ogatae*, *Candida ishiwadae* e *Pichia galeiformis*. *Saccharomyces cerevisiae* è risultata la specie dominante nelle cultivar esaminate. Per la specie *S. cerevisiae* è stata

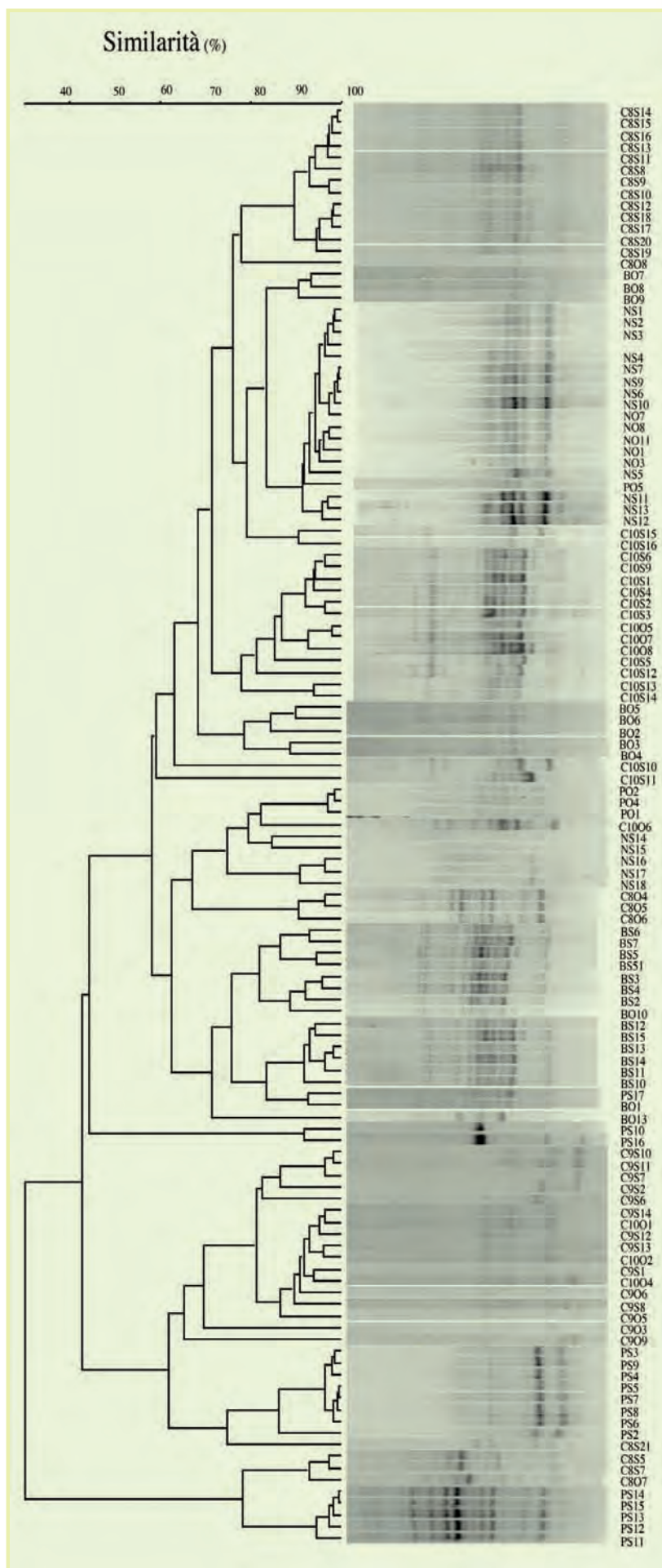


Figura 2. Dendrogramma ottenuto dall'analisi dei profili elettroforetici generati con primer M13 per gli isolati di lieviti.



anche possibile una differenziazione a livello di ceppo e ciò a conferma della validità della tecnica RAPD-PCR adoperata come metodo di indagine in grado di tipizzare ceppi microbici appartenenti ad una stessa specie.

Caratterizzazione tecnologica

Un totale di 75 LAB è stato sottoposto a caratterizzazione tecnologica come descritto in Materiali e Metodi. Tutti i ceppi sono risultati in grado di sviluppare in presenza di 6 e 8% di NaCl. Non è stata, invece, osservata crescita al 10 e al 12% di NaCl. Inoltre, il 90% dei ceppi è stato in grado di crescere in salamoia modificata ed il 27% ha presentato attività β -glucosidasi, suggerendo un possibile ruolo di tali ceppi nell'idrolisi dell'oleuropeina (dati non mostrati). Nel caso dei lieviti sono state valutate qualitativamente sia attività positive (β -glucosidasi e perossidasi) che negative (pectinolitica). I risultati ottenuti sono mostrati in Tabella 4. In particolare, i ceppi di *S. cerevisiae* mostravano una spiccata attività perossidasi. Alcuni autori hanno rilevato questa attività in specie associate al genere *Pichia*, suggerendo un loro possibile coinvolgimento nell'inibizione dell'ossidazione degli acidi grassi insaturi e della formazione di perossidi [47]. Riguardo alla presenza di attività β -glucosidasi soltanto i ceppi di *W. anomalus* mostravano questa attività.

Tabella 4. Analisi qualitative delle attività β -glucosidasi, perossidasi e pectinolitica dei lieviti isolati dalle diverse cultivar

Cultivar	Specie	Attività β -glucosidasi	Attività perossidasi	Attività pectinolitica
Itrana Nera	<i>S. cerevisiae</i>	-	++	-
Itrana Bianca	<i>S. cerevisiae</i>	-	++	-
Peranzana 1 e 2	<i>P. galeiformis</i>	-	+	-
	<i>S. cerevisiae</i>	-	++	-
	<i>C. boidinii</i>	-	+	-
Nocellara del Belice	<i>P. galeiformis</i>	-	+	-
	<i>S. cerevisiae</i>	-	++	-
Cellina di Nardò	<i>S. cerevisiae</i>	-	++	-
	<i>C. boidinii</i>	-	+	-
	<i>W. anomalus</i>	+	+	-
	<i>C. ogatae</i>	-	+	-
Bella di Cerignola	<i>S. cerevisiae</i>	-	++	-
	<i>C. ishiwadae</i>	-	+	-

Legenda: - (assenza di attività); + (presenza di attività); ++ (presenza di forte attività).

DISCUSSIONE

La fermentazione delle olive da tavola dipende dall'interazione tra LAB, batteri Gram-negativi e lieviti che contribuiscono alla definizione delle caratteristiche qualitative del prodotto finito. Infatti, con il diminuire del pH all'inizio della fermentazione, i batteri lattici, inizialmente cocchi e poi lattobacilli, prendono il sopravvento per divenire ben presto dominanti e persistere fino alla fine della fermentazione; i lieviti, invece, cominciano a crescere già nelle prime fasi di fermentazione e raggiungono la densità massima di popolazione dopo 10-25 giorni coesistendo per l'intero processo con i LAB [33].

Nel presente lavoro, i valori microbiologici delle conte sulle olive sono risultati inferiori di 1-2 cicli logaritmici rispetto a quelli relativi alle salamoie. Risultati analoghi sono stati ottenuti da Pereira et al. [34] su olive da tavola commercializzate in Portogallo. La maggiore presenza di microrganismi nella salamoia è probabilmente riconducibile al fatto che la polpa è caratterizzata da una maggiore concentrazione di composti fenolici che possono inibire lo sviluppo microbico [34, 35]. Inoltre, è interessante notare come il rapporto tra LAB e lieviti sia abbastanza simile tra le cultivar anche se i lieviti presentano una maggiore resistenza alle alte concentrazioni saline ed ai composti fenolici rispetto ai LAB che, tuttavia, sono fondamentali per il corretto andamento del processo fermentativo [36, 37]. Pertanto numerosi autori hanno proposto l'impiego di colture starter di LAB e l'aggiunta di piccole quantità di glucosio (0,5%) al fine di abbassare rapidamente il pH della salamoia intorno a valori di 4,3 già durante i primi giorni della fermentazione [38, 39]. Nel caso di mancato raggiungimento di tali valori, alcuni produttori utilizzano acido lattico insieme ad acido citrico ed ascorbico al fine di ridurre il pH, rischiando però di alterare il flavour finale del prodotto [40].

In seguito, al fine di identificare le specie prevalenti nelle olive da tavola delle diverse cultivar analizzate, gli isolati sono stati sottoposti ad identificazione e tipizzazione molecolare. In particolare la tipizzazione dei LAB e dei lieviti è stata effettuata mediante rep-PCR e RAPD-PCR, rispettivamente. I dati ottenuti hanno mostrato che nel caso dei LAB le specie maggiormente rappresentate erano *Lb. pentosus* e *Lb. plantarum*. Tuttavia, il sequenziamento ha mostrato anche la presenza di altre specie come *Lb. fermentum* e *Lb. helveticus*. Tali dati sono in linea con quelli riportati in letteratura; infatti, la maggior parte degli autori riporta che le specie principali che guidano la fermentazione delle olive, riducendo la sopravvivenza degli enterobatteri e abbassando il pH, sono *Lb. pentosus* e *Lb. plantarum* [4, 5, 41]. Tali microrganismi, infatti, sono in grado di sopravvivere in ambienti acidi e tollerare elevate concentrazioni saline (es. 8-10%). Inoltre, alcuni ceppi mostrano attività β -glucosidasi, essenziale per l'idrolisi dell'oleuropeina e risultano in grado di crescere in presenza di composti fenolici ad attività anti-microbica, come il verbascoside, naturalmente presenti nella salamoia [42]. Per tali motivi *Lb. pentosus* e *Lb. plantarum* sono spesso impiegati, a livello sperimentale, come colture starter e mostrano buone potenzialità non solo per la riduzione dei tempi di fermentazione, ma anche per il controllo di fenomeni di spoilage [43, 44, 45, 46].

Nel caso dei lieviti la specie dominante è risultata *S. cerevisiae*. Tuttavia, il sequenziamento della regione D1/D2 del 26S rRNA ha permesso di identificare anche altre specie quali *W. anomalus*, *C. boidini*, *C. ogatae*, *C. ishiwadae* e *P. galeiformis*. I dati ottenuti sono in linea con quelli di altri autori che hanno evidenziato che *S. cerevisiae*, *W. anomalus*, *P. membranifaciens* e *Rhodotorula glutinis* sono le specie più frequentemente isolate da olive [14, 15, 47]. La presenza maggioritaria di *S. cerevisiae* in tutte le cultivar analizzate può rappresentare il presupposto per un suo possibile impiego come starter. Tale microrganismo è in grado di produrre componenti come carotenoidi, acido citrico, glutazione e tocoferoli. La formazione di questi composti può essere indotta durante la crescita in condizioni di stress, di fenoli nel mezzo di fermentazione, o di additivi dannosi alla crescita cellulare aerobica. La presenza di lieviti in grado di produrre antiossidanti bioattivi in olive da tavola può quindi ritardare la degenerazione ossidativa delle sostanze grasse ed aggiungere a quest'alimento caratteristiche funzionali.



Nel presente lavoro nessuno dei lieviti isolati presentava attività pectinolitica. Inoltre, i dati derivanti dalla caratterizzazione tecnologica hanno evidenziato che i ceppi di *W. anomalus* sono stati caratterizzati dalla presenza di attività β -glucosidasi. Anche in un precedente studio di Hernandez et al. [47] è stato riferito l'isolamento, da olive fermentate, di diversi ceppi appartenenti a questa specie con interessanti proprietà tecnologiche. Pertanto, tale microrganismo potrebbe essere un interessante candidato per la deamarizzazione delle olive da tavola.

CONCLUSIONI

La produzione di olive da tavola rappresenta un'importante realtà economica per molti paesi del Mediterraneo, tuttavia il processo fermentativo è ancora condotto in maniera empirica, portando allo sviluppo di una microbiota naturale e pertanto non standardizzabile. Al fine di ottenere un processo di fermentazione più prevedibile è stato proposto il ricorso all'impiego di colture starter. Un appropriato inoculo, infatti, può prevenire i fenomeni di spoilage da parte di microrganismi alteranti, inibire la crescita di patogeni e garantire un processo maggiormente controllabile e quindi un prodotto "ripetibile" e privo di difetti. I dati ottenuti nel presente lavoro rappresentano la base per la selezione di LAB e lieviti da utilizzare come starter nella fermentazione delle olive da tavola.

RINGRAZIAMENTI

Il lavoro è stato eseguito con il contributo di UNAPROL nell'ambito del Programma di attività ai sensi del Reg. CE n. 867/2008 Misura 4 – Tracciabilità, certificazione e tutela della qualità dell'olio di oliva e delle olive da tavola – Azione 4 d.

Si ringraziano i responsabili delle Aziende aderenti al progetto per aver fornito i campioni di olive delle diverse cultivar e la Dott.ssa Di Gianvito Paola per aver contribuito in maniera entusiastica alle attività di laboratorio.

BIBLIOGRAFIA

- [1] Unaprol (Unione Nazionale Produttori di Olive, Consorzio Olivicolo Italiano Società Consortile a responsabilità limitata). Scenario economico olive da tavola 1, 3–8 (2010).
- [2] M. Servili, L. Settanni, G. Veneziani, S. Esposto, O. Massitti, A. Taticchi, S. Urbani, G.F. Montedoro, A. Corsetti. The use of *Lactobacillus pentosus* 1MO to shorten the debittering process time of black table olives (Cv. Itrana and Leccino): a pilot-scale application. *J. Agric. Food Chem.* 54, 3869–3875 (2006).
- [3] A. Garrido-Fernandez, M.J. Fernandez-Diaz, M.R. Adams. *Table olives: Production and Processing*. Chapman & Hall, Londra (1997).
- [4] G.J. Nychas, E.Z. Panagou, M.L. Parker, K.W. Waldron, C.C. Tassou. Microbial colonization of naturally black olives during fermentation and associated biochemical activities in the cover brine. *Lett. Appl. Microbiol.* 34, 173–7 (2002).
- [5] C.C. Tassou, E.Z. Panagou, K.Z. Katsaboxakis. Microbiological and physicochemical changes of naturally black olives fermented at different temperatures and NaCl levels in the brines. *Food Microbiol.* 19, 605–615 (2002).
- [6] P. Lavermicocca, M. Gobbetti, A. Corsetti, L. Caputo. Characterization of lactic acid bacteria isolated from olive phylloplane and table olives brines. *Ital. J. Food Sci.* 10, 27–39 (1998).
- [7] M. Gobbetti, P. Lavermicocca, A. Corsetti. *Microbiologia degli alimenti*. In G. De Filip EDS. *Recenti sviluppi di igiene e microbiologia degli alimenti* (Milano, Italia) pp. 217-302 (2001).
- [8] C. Caggia, C.L. Randazzo, M. Di Salvo, F. Romeo, P. Giudici. Occurrence of *Listeria monocytogenes* in Green Table Olives. *J. Food Prot.* 67, 2189–2194 (2004).
- [9] A. Cawthorne, L. Pastore, T. Celentano, F. D'Ancona, A. Bella, M. Massari, F. Anniballi, L. Fenicia, P. Aureli, S. Salmaso. Botulism and Preserved Green Olives. *Emerging Infectious Disease*, 11, n° 5 (2005).
- [10] F.N. Arroyo López, M.C. Duran Quintana, C. Romero, F. Rodríguez Gómez, A. Garrido Fernandez. Effect of sto-

rage process on the sugars, polyphenols, color and microbiological changes in cracked Manzanilla-Aloreña table olives. *J. Agric. Food Chem.* 55, 7734–44 (2007).

[11] P. Deiana, G.A. Farris, P. Catzeddu, G. Madau. Impiego di fermenti lattici e lieviti nella preparazione delle olive da mensa. *Ind. Aliment.* XXXI, 1011 (1992).

[12] M. Psani, P. Kotzekidou. Technological characteristics of yeast strains and their potential as starter adjuncts in Greek-style black olive fermentation. *World J. Microbiol. Biotechnol.* 22, 1329–1336 (2006).

[13] K. Ettayebi, F. Errachidi, L. Jamaï, M.A. Tahri-Jouti, K. Sendide, M. Ettayebi. Biodegradation of polyphenols with immobilized *Candida tropicalis* under metabolic induction. *FEMS Microbiol. Lett.* 223, 215–219 (2003).

[14] F.N. Arroyo López, M.C. Duran Quintana, J.L. Ruiz-Barba, A. Querol, A. Garrido-Fernandez. Use of molecular methods for the identification of yeasts associated with table olives. *Food Microbiol.* 23, 791–796 (2006).

[15] A. Hurtado, C. Reguant, B. Esteve-Zarvosó, A. Bordons, N. Rozès. Microbial population dynamics during the processing of Arbequina table olives. *Food Research International* 41, 738–744 (2008).

[16] Association Française de Normalisation. Microbiologie des aliments e Recherche des Salmonella e Méthode de routine NF V 08–052 (1997).

[17] ISO (International Organization for Standardization) 11290-2. Microbiology of Food Animal Feeding Stuff e Horizontal Method for the Detection and Enumeration of *Listeria monocytogenes* e Part 2: Enumeration Method (1998)

[18] ISO (International Organization for Standardization) 16654. Microbiology of Food Animal Feeding Stuff e Horizontal Method for the Detection and Enumeration of *Escherichia coli* O157:H7 (2002).

[19] C.G. de Los Reyes-Gavilán, G.K. Limsowtin, P. Tailliez, L. Séchaud, J.P. Accolas. A *Lactobacillus helveticus*-Specific DNA Probe Detects Restriction Fragment Length Polymorphisms in This species. *Appl. Environ. Microbiol.* 58, 3429–3432 (1992).

[20] S. Torriani, G.E. Felis, F. Dellaglio. Differentiation of *Lactobacillus plantarum*, *L. pentosus*, and *L. paraplantarum* by recA gene sequence analysis and multiplex PCR assay with recA gene-derived primers. *Appl. Environ. Microbiol.* 67, 3450–3454 (2001).

[21] A. Corsetti, L. Settanni, D. Van Sinderen. Characterization of bacteriocin like inhibitory substances (BLIS) from sourdough lactic acid bacteria and evaluation of their in vitro and in situ activity. *Appl. Environ. Microbiol.* 96, 521–534 (2004).

[22] S.F. Altschult, T.L. Maddelen, A.A. Schaffer, J. Zhang, Z. Zhang, W. Miller, D.J. Lipman. Gapped BLAST and PSI-BLAST: a new generation of protein database search programs. *Nucleic Acids Res.* 25, 3389–3402 (1997).

[23] D. Gevers, G. Huys, J. Swings. Applicability of rep-PCR fingerprinting for identification of *Lactobacillus* species. *FEMS Microbiol. Lett.* 205, 31–36 (2001).

[24] J.A. Barnett, R.W. Payne, D. Yarrow. *Yeasts: Characteristics and Identification*, 3rd eds. Cambridge Univ. Press, Cambridge (2000).

[25] A. Querol, E. Barrio, T. Huerta, D. Ramon. Molecular monitoring of wine fermentations conducted by active dry yeast strains. *Appl. Environ. Microbiol.* 58, 2948–2953 (1992).

[26] C.P. Kurtzman, C. Robnett. Identification and phylogeny of ascomycetous yeast from analysis of nuclear large subunit (26S) ribosomal DNA partial sequences. *Antonie van Leeuwenhoek* 73, 331–371 (1998).

[27] C.L. Randazzo, C. restuccia, A.D. Romano, C. Caggia. *Lactobacillus casei*, dominant species in naturally fermented Sicilian green olives. *Int. J. Food Microbiol.* 90, 9–14 (2004).

[28] I. Rosi, M. Vinella, P. Domizio. Characterization of β -glucosidase activity in yeasts of oenological origin. *J. Appl. Bacteriol.* 77, 519–527 (1994).

[29] R. Vaughn, T. Jakubczyk, J.D. Macmillan, T.E. Higgins, B.A. Davé, V.M. Crampto. Some pink yeasts associated with softening of olives. *Appl. Microbiol.* 18, 771–775 (1969). [

[30] R. Whittenbury. Hydrogen peroxide formation and catalase activity in the lactic acid bacteria. *J. Gen. Microbiol.* 35, 13–26 (1964).

[31] E.Z. Panagou, U. Schillinger, C.M.A.P. Franz, G.J.E. Nychas. Microbiological and biochemical profile of cv. Conservolea naturally black olives during controlled fermentation with selected strains of lactic acid bacteria. *Food Microbiol.* 25, 348–358 (2008).

[32] A. Hurtado, C. Reguant, A. Bordons, N. Rozès. Evaluation of a single and combined inoculation of a *Lactobacillus pentosus* starter for processing cv. Arbequina natural green olives. *Food Microbiol.* 27, 731–740 (2010).



- [33] C.C. Tassou, G.J. Nychas, E.Z. Panagou, M.L. Parker, K.W. Waldron. Microbial colonization of naturally black olives during fermentation and associated biochemical activities in the cover brine. *Lett. Appl. Microbiol.* 34, 173–177 (2002).
- [34] A.P. Pereira, J.A. Pereira, A. Bento, M.L. Estevinho. Microbiological characterization of table olives commercialized in Portugal in respect to safety aspects. *Food Chem. Toxicol.* 46, 2895–2902 (2008).
- [35] A. Sousa, I.C.F.R. Ferreira, L. Barros, A. Bento, J.A. Pereira. Antioxidant potential of traditional stoned table olives “Alcaparras”: influence of the solvent and temperature extraction conditions. *LWT-Food Sci. Technol.* 41, 739–745 (2008).
- [36] A. Asehraou, C. Peres, D. Brito, M. Faid, M. Serhrouchni. Characterization of yeasts strains isolated from bloaters of fermented green table olives during storage. *Grasas y Aceites* 51, 225–229 (2000).
- [37] M.J.R. Nout, F.M. Rombouts. Fermented and acidified plant foods. In: B.M. Lund, T.C. Baird-Parker, G.W. Gould (Eds.) *The Microbiological Safety and Quality of Food*, vol. I. Aspen Publishers, Inc., Gaithersburg, Maryland (2000).
- [38] P. De Bellis, F. Valerio, A. Sisto, S.L. Lonigro, P. Lavermicocca. Probiotic table olives: Microbial populations adhering on olive surface in fermentation sets inoculated with the probiotic strain *Lactobacillus paracasei* IMPC2.1 in an industrial plant. *Int. J. Food Microbiol.* 140, 6–13 (2010).
- [39] M. Perricone, A. Bevilacqua, M.R. Corbo, M. Sinigaglia. Use of *Lactobacillus plantarum* and glucose to control the fermentation of “Bella di Cerignola” table olives, a traditional variety of Apulian region (Southern Italy). *J. Food. Sci.* 75, 430–436 (2010).
- [40] A. Bevilacqua, M. Gallo, M. Cannarsi, M.R. Corbo, M. Sinigaglia, A. Jaschke-Ferreri. Indagine preliminare sulla qualità di olive “Bella di Cerignola”: studio del quadro microbiologico in caso di conservazione non idonea. *Ind. Alimentari* 47, 612–619 (2008).
- [41] A. Hurtado, C. Reguant, A. Bordons, N. Rozès. Influence of fruit ripeness and salt concentration on the microbial processing of Arbequina table olives. *Food Microbiol.* 26, 827–833 (2009).
- [42] G. Ciafardini, V. Marsilio, B. Lanza, N. Pozzi. Hydrolysis of oleuropein by *Lactobacillus plantarum* strains associated with olive fermentation. *Appl. Environ. Microbiol.* 60, 4142–4147 (1994).
- [43] N.G. Chorianopoulos, I.S. Boziaris, A. Stamatiou, G.J.E. Nychas. Microbial association and acidity development of unheated and pasteurised green table olives fermented using glucose or sucrose supplements at various levels. *Food Microbiol.* 22, 117–124 (2005).
- [44] Z. Lamzira, A. Asehraou, D. Brito, M. Oliveira, M. Faid, C. Peres. Bloater spoilage of green olives. *Food Technol. Biotechnol.* 43, 373–377 (2005).
- [45] E.Z. Panagou, U. Schillinger, C.M.A.P. Franz, G.J.E. Nychas. Microbiological and biochemical profile of cv. Conservolea naturally black olives during controlled fermentation with selected strains of lactic acid bacteria. *Food Microbiol.* 25, 348–358 (2008).
- [46] N. Sabatini, M. Mucciarella, V. Marsilio. Volatile compounds in uninoculated and inoculated table olives with *Lactobacillus plantarum* (*Olea europaea* L., cv. Moresca and Kalamata). *Food Sci. Technol.* 41, 2017–2022 (2008).
- [47] A. Hernandez, A. Martin, E. Aranda, F. Perez-Navado, M.G. Cordoba, M.G. Identification and characterization of yeasts isolated from the elaboration of seasoned green table olives. *Food Microbiol.* 24, 436–351 (2007).

Standardizzazione del processo di deamarizzazione biologica per il miglioramento della qualità delle olive da tavola di varietà italiane.

ABSTRACT

Con il seguente lavoro si sono confrontati metodi di deamarizzazione biologica su olive appartenenti alle principali cultivar italiane impiegate per la produzione di olive da mensa quali Itrana bianca e nera dal Lazio, Peranzana e Cellina di Nardò dalla Puglia e Nocellara del Belice dalla Sicilia. Esse venivano fermentate al naturale in condizioni di industrial scale, per mezzo di microrganismi spontanei o in condizioni di lab scale, attraverso l'impiego di starters di batteri lattici opportunamente selezionati per la loro resistenza ad alte concentrazioni in sale e polifenoli.

I risultati dimostrano che la deamarizzazione biologica con starters consente di ridurre notevolmente i tempi di fermentazione e allo stesso tempo garantisce maggior sicurezza nei confronti della salute del consumatore dato il rapido abbassamento del pH che impedisce la crescita di microrganismi patogeni.

La qualità salutistica e sensoriale strettamente connessa alla presenza dei secoiridoidi nel frutto risulta molto più elevata grazie alla rapidità del processo che consente di ottenere un prodotto che conserva un adeguato contenuto in polifenoli.

INTRODUZIONE

Il Consiglio Oleicolo Internazionale (COI) definisce le olive da tavola come i frutti sani di specifiche varietà, raccolte ad un appropriato grado di maturazione a cui corrisponde una qualità, stabilita in base a determinati parametri (indicati successivamente), tale da assicurare l'ottenimento di un prodotto commerciale commestibile e conservabile (1).

Le olive destinate alla trasformazione sono, dunque, caratterizzate dai seguenti parametri:

1. peso tra i 3 ed i 5 grammi per le olive di media pezzatura, oltre i 5 grammi per le grandi;
2. forma generalmente rotondeggiante con nocciolo che si distacca facilmente;
3. rapporto polpa/nocciolo superiore a 5;
4. buccia sottile, ma elastica e resistente all'azione degli alcali e della salamoia;
5. è auspicabile una elevata concentrazione zuccherina nella polpa, al di sopra del 4%;
6. il contenuto in olio dovrebbe essere il più basso possibile per non alterare la consistenza del frutto in seguito alla trasformazione e per garantire una maggiore conservabilità del prodotto (1).

Le olive destinate ad un prodotto da mensa subiscono un processo di deamarizzazione che ha il principale scopo di una riduzione più o meno importante, della naturale sensazione di "amaro" che caratterizza questo frutto, rendendolo gradevole dal punto di vista sensoriale.

Responsabili di questa sensazione gustativa, sono alcune sostanze tipiche ed esclusive della specie *Olea europaea* quali oleuropeina, demetiloleuropeina e ligustroside, secoiridoidi glucosidi che molte ricerche hanno dimostrato possedere non solo importanti proprietà salutistiche (2-6), ma anche le caratteristiche sensoriali suddette. Questi composti perdono il loro naturale "bitter taste" una volta idrolizzati in idrossitirosolo, tirosolo, glucosio ed acido elenolico, tramite il processo definito appunto, di "deamarizzazione".

Quest'ultimo si basa sostanzialmente su due tecniche:

Servili M. ¹, Urbani S. ¹, Esposto S. ¹, Taticchi A. ¹, Veneziani G. ¹, Di Maio I. ¹, Sordini B. ¹, Selvaggini R. ¹, Corsetti A. ².

¹Dipartimento di Scienze Economico-Estimative e degli Alimenti, Sezione di Tecnologie e Biotecnologie degli Alimenti, Università di Perugia, Via San Costanzo 1, 06126, Perugia.

²Dipartimento di Scienze degli Alimenti, Università di Teramo, Via Carlo R. Lericci, 1, 64023, Mosciano Sant' Angelo (TE).



1. *la prima è una deamarizzazione chimica, conosciuta anche come metodo "spagnolo", che consiste nel conseguimento di un'idrolisi chimica dei secoiridoidi glucosidi da parte di soluzione alcaline (un soluzione a base di idrossido di sodio). Alla fase di deamarizzazione vera e propria segue quella di fermentazione microbica grazie alla quale avviene la produzione di acido lattico a partire dagli zuccheri nel mezzo (acidificazione) (7, 8, 9, 10).*

2. *La seconda conosciuta come deamarizzazione biologica o metodo "greco" (o "al naturale"), è basata sull'idrolisi enzimatica da parte di glicosidasi ed esterasi prodotte da microrganismi autoctoni, principalmente batteri lattici, cresciuti spontaneamente nel mezzo (salamoia) e/o per mezzo di starters costituiti da ceppi specifici di *Lactobacillus*. In entrambi i casi i microrganismi portano avanti, con tempi e risultati differenti, sia la deamarizzazione che la fermentazione del prodotto (acidificazione) (7, 8, 11-17).*

Tra i due metodi, quello chimico è certamente quello più conosciuto da un punto di vista scientifico e le fasi operative che lo caratterizzano sono ormai codificate sia in termini di processo che di gestione dei reflui (7, 8, 10).

La deamarizzazione biologica, seppur spesso legata all'applicazione di "ricette" tradizionali locali, è la tecnica più interessante, soprattutto per le potenziali proprietà salutistiche che il prodotto finale può manifestare, data la maggiore concentrazione di sostanze fenoliche che possono rimanere nel frutto rispetto a quelle che usualmente si ritrovano nelle olive deamarizzate con soda.

Recenti lavori hanno dimostrato inoltre, come la concentrazione fenolica delle olive da tavola deamarizzate per via biologica sia, non solo quantitativamente più elevata, rispetto al metodo chimico, ma qualitativamente differenziata: oltre al 3,4-diidrossifenilteanololo (idrossitirosolo o 3,4-DHPEA), si ritrovano una serie di derivati dell'oleuropeina e del verbascoside, altro composto fenolico, derivato dell'acido idrossicinnamico, di cui è importante considerare la bioattività (15-17).

Tuttavia, uno dei punti critici di questo metodo è legato al fatto che il processo fermentativo non viene generalmente condotto utilizzando starters selezionati, ma è lasciato ai microrganismi autoctoni, presenti sulla pellicola della drupa e/o nelle salamoie, con i relativi problemi che tale empirismo comporta, sia dal punto di vista della standardizzazione della qualità, sia nei riguardi dei tempi di "lavorazione".

La deamarizzazione "al naturale", si realizza infatti, in un range di tempo che va dai sei agli otto mesi, in funzione dalle varietà da trattare, dalla zona di origine, dal loro stato di maturazione al momento della messa in salamoia ecc.; tutti fattori questi da cui dipende la concentrazione dei composti fenolici da idrolizzare.

I costi di produzione inoltre, dovranno comprendere in tal caso, un'ingente fase di "stoccaggio del prodotto". La sicurezza e la qualità del prodotto finale, dipenderanno peraltro, anche dalle peculiari condizioni climatiche che caratterizzeranno questo lungo periodo di fermentazione (7, 8, 15-17).

Per quanto sopra esposto, la selezione di microrganismi in grado di promuovere la deamarizzazione indipendentemente dalle caratteristiche compositive della materia prima (varietà), dallo stadio di maturazione e quant'altro, diventa un punto cruciale dell'intero processo biologico: l'alta concentrazione di alcune sostanze quali oleuropeina, demetiloleuropeina e, soprattutto verbascoside, possono indurre infatti, una forte attività inibente sulla crescita della flora microbica inoculata, compromettendone la produzione enzimatica e quindi l'idrolisi dei secoiridoidi glucosidi (18).

Al fine di risolvere tali problematiche, la ricerca nel settore si è impegnata nella selezione di starters di batteri lattici poco sensibili all'attività anti-microbica dei composti fenolici (11-17), capaci di effettuare deamarizzazione per mezzo di idrolisi dei secoiridoidi glucosidi, nel più breve tempo possibile, garantendo maggiore salubrità e preservando, allo stesso tempo, parte del patrimonio antiossidante naturale delle olive.

Prove condotte in lab scale con tali microrganismi hanno già dimostrato che la riduzione dei

tempi di deamarizzazione e la rapida acidificazione, limitano i processi ossidativi a carico dei componenti fenolici che sono alla base della perdita del valore salutistico a cui si va normalmente incontro con le tecnologie tradizionali di fermentazione (15-17). Il rapido abbassamento del pH dovuto ad una veloce trasformazione degli zuccheri nel mezzo in acido lattico, sembra inoltre inibire lo sviluppo di batteri coliformi che potrebbero compromettere la qualità e la sicurezza del prodotto finale (15-17).

Altro aspetto da sviluppare riguardo il sistema biologico è lo smaltimento dei reflui oleari rappresentati dalle salamoie di fermentazione, dato il loro non trascurabile impatto ambientale, da ricondurre principalmente al loro elevato contenuto di polifenoli (15-19), i quali potrebbero essere opportunamente recuperati e reimpiegati in altri settori alimentari (per la produzione di functional foods) e zootecnici, attraverso tecniche di filtrazione come già realizzato a livello industriale, per le acque di vegetazione provenienti dall'estrazione meccanica dell'olio vergine di oliva (19).

SCOPO

Le seguenti prove sono volte all'ottenimento di oliva da tavola di alta qualità attraverso la messa a punto della pratica tecnologica della deamarizzazione biologica, attualmente effettuata con metodi difficilmente standardizzabili.

Punto focale della prova è stato caratterizzare dal punto di vista della composizione fenolica, alcune delle più importanti varietà di olive a livello nazionale, trasformate per il prodotto da "mensa", valutando in particolare, l'incidenza di questa variabile, responsabile delle sensazioni amare del frutto tal quale, sul processo di deamarizzazione condotto per mezzo di fermentazioni biologiche spontanee (in industrial scale) e per mezzo di starters di ceppi batterici opportunamente selezionati per la loro resistenza al cloruro di sodio e per la capacità di idrolizzare contenuti variabili di composti fenolici (in lab scale).

MATERIALI E METODI

Olive

Olive fermentate industrialmente (industrial scale). Per le varietà Itrana bianca e nera dal Lazio, Peranzana e Cellina di Nardò dalla Puglia e Nocellara del Belice dalla Sicilia, la fermentazione avveniva all'interno di fusti in plastica coperti, contenenti ca. 300 kg di olive e ca. 300 L di salamoia dal 6 al 10 % di sale, in relazione alla cultivar e alle pratiche tradizionali applicate nelle varie zone di produzione. La fermentazione non era coadiuvata dall'uso di starters di batteri lattici ma avveniva grazie alla flora microbica spontanea. Il processo di deamarizzazione aveva una durata variabile dai 5 agli 11 mesi. La tipologia (cultivar e colore delle drupe) dei campioni prelevati a fine deamarizzazione è descritta in Tabella 1.

Olive fermentate in laboratorio (lab scale). Dopo 24 ore dall'arrivo in laboratorio presso il Dipartimento di Scienze degli Alimenti della facoltà di Agraria (Università degli Studi Teramo) campioni di olive fresche (non deamarizzate) appartenenti alle stesse cultivar di Tabella 1 (lavorate in industrial scale), venivano lavate e poste in una salamoia così costituita: 3 g/L glucosio, 0,5 g/L estratto di lievito, 6% NaCl e pH 6.

Le salamoie dove venivano poste le olive a fermentare, venivano immediatamente inoculate con starters rappresentati da due ceppi della specie di batterio lattico *Lactobacillus pentosus*, (il ceppo 1MO e il ceppo C859, impiegati separatamente in concentrazioni di 10^6 UFC/mL, ciascuno), quindi mantenute a 20 °C.

Le fermentazioni venivano condotte in barattoli di vetro tipo Bormioli, contenenti 750 g di olive e 750 mL di salamoia.

Il processo di deamarizzazione si concludeva in 42 giorni per tutte le varietà studiate.



(Tabella 1).

Tabella 1. Principali caratteristiche delle tipologie di oliva lavorate in *industrial* e in *lab scale*.

Varietà	Provenienza	Stato di maturazione	Preparazione
<i>Itrana</i> “bianca”	Lazio	Olive verdi	Olive in salamoia fermentate al naturale
<i>Itrana</i> “nera”	Lazio	Olive nere	Olive in salamoia fermentate al naturale
<i>Peranzana</i>	Puglia	Olive nere	Olive in salamoia fermentate al naturale
<i>Nocellara del Belice</i>	Sicilia	Olive verdi	Olive in salamoia fermentate al naturale
<i>Cellina di Nardò</i>	Puglia	Olive nere	Olive in salamoia fermentate al naturale
<i>Bella di Cerignola</i>	Puglia	Olive verdi	Olive in salamoia fermentate al naturale

Standards.

L'idrossitirosolo (3,4-DHPEA) veniva acquistato da Cayman Chemicals Ltd. (Ann Arbor, MI), il tirosolo (p-HPEA) da Janssen Chemical Co. (Beerse, Belgio), l'oleuropeina glucoside da Extrasynthèse (Francia) e l'acido caffeico da Fluka e Aldrich (Milano, Italia). La demetioleuropeina ed il verbascoside venivano estratti dal frutto dell'oliva secondo quanto pubblicato in precedenti lavori (20). In breve i polifenoli venivano recuperati da 20 grammi di pasta usando una miscela di metanolo/acqua 80:20 v/v + DIECA (50 mL); questa estrazione veniva ripetuta 3 volte.

Le forme dialdeidiche dell'acido elenolico legate a 3,4- DHPEA e p-HPEA (3,4-DHPEA-EDA e p-HPEA-EDA, rispettivamente) e l'isomero dell'oleuropeina aglicone (3,4-DHPEA-EA) venivano estratti dall'olio usando una procedura precedentemente riportata in (21). In breve, i fenoli venivano estratti usando metanolo/acqua 80:20 v/v. Dopo evaporazione e purificazione dell'estratto crudo ottenuto dal frutto e dall'olio, la separazione dei fenoli avveniva tramite cromatografia liquida semipreparativa (HPLC), usando una colonna semipreparativa 9.4 mm i.d. × 500 mm Whatman Partisil 10 ODS. La fase mobile era composta da acido acetico 0.2% in acqua (pH 3.1) (A)/metanolo (B) ad un flusso di 6.5 mL/min. La valutazione dei fenoli era effettuata usando un detector a fotodiodi (DAD) (21).

La purezza di tutte le sostanze ottenute dalla estrazione diretta veniva testata attraverso HPLC, e la loro struttura chimica era verificata tramite NMR usando le stesse condizioni riportate in lavori precedenti (20, 21).

Analisi chimiche.

Si riportano di seguito ed in dettaglio le metodiche riguardanti l'analisi dei composti fenolici delle olive provenienti da fermentazione al naturale condotta in industrial ed in lab scale e delle relative olive “fresche”, quando disponibili.

Per quel che concerne le analisi strettamente di natura nutrizionale, sensoriale e microbiologica e per valutazione della concentrazione salina ed idrogenionica della salamoia, si rimanda alle relazioni di Lanza et al., e Corsetti et al., riportate nel medesimo volume.

Composti fenolici.

Le analisi dei composti fenolici delle olive provenienti dal sistema industriale, sono state ese-

guita sul prodotto già fermentato, quelle provenienti dal lab scale sono state eseguite sia sulle olive che sulle salamoie, prima e dopo il processo di fermentazione.

Estrazione dei polifenoli dalle olive. L'estrazione dei polifenoli dalle olive è stata eseguita in accordo con il metodo descritto da Servili et al., (22), apportando le seguenti modifiche:

- preparazione dell'estratto acquoso dalla polpa delle olive: per ogni cultivar venivano pesati 10 g. di polpa che veniva omogeneizzata con 100 ml di metanolo 80% contenente 20 mg/L di dietilditiocarbammato di sodio (DIECA), aggiungendo ghiaccio secco. L'omogeneizzazione veniva effettuata per 1 minuto a 7000 giri/min.;
- filtrazione dell'omogeneizzato ripetuta per tre volte;
- recupero del filtrato e concentrazione dello stesso fino al raggiungimento di un estratto acquoso di un volume finale di 50 ml;
- estrazione in fase solida (SPE) dei composti fenolici da 1 ml di estratto acquoso mediante cartuccia precedentemente attivata (C18-900 mg, Alltech). L'attivazione della cartuccia avveniva con caricamento di 10 ml di metanolo puro e 10 ml di acqua distillata, in successione.

L'estratto acquoso in cartuccia, veniva eluito con 50 mL di metanolo, recuperato e successivamente evaporato sotto flusso d'azoto. Il residuo secco ottenuto veniva risolubilizzato con 5 mL di metanolo puro ed evaporato nuovamente sotto N₂. L'estratto fenolico veniva mantenuto a -20°C fino al momento del dosaggio.

Estrazione dei polifenoli dalle salamoie. L'estrazione dei polifenoli dalle salamoie avveniva sempre tramite SPE, attraverso caricamento di 1 mL di salamoia fresca su cartuccia (C18 900 mg Alltech) preventivamente attivata, come indicato precedentemente. Il resto delle operazioni avveniva come indicato per la polpa di olive (22).

Dosaggio dei polifenoli delle olive e delle salamoie HPLC. L'estratto fenolico ottenuto dalla polpa delle olive e dalle relative salamoie veniva analizzato attraverso analisi HPLC (23) dopo aver recuperato con 1 mL di metanolo l'estratto ed averlo filtrato. L'unica differenza introdotta nel metodo era nell'utilizzo di una colonna separativa Spherisorb ODS1 250 x 4,6 mm con diametro delle particelle di 5 µm.

Per quanto concerne la strumentazione HPLC veniva usato il sistema mod 1100 della Agilent Technologies composto da pompa quaternaria completa di degasatore, autocampionatore, comparto colonne termostatao, rivelatore a fotodiodi UV-Vis e rivelatore di fluorescenza. Per la valutazione dei composti fenolici venivano iniettati 20 µL di campione.

La fase mobile era composta da acido acetico 0.2% (pH 3.1) in acqua (solvente A)/metanolo (solvente B) ad un flusso di un 1 mL/min.

Il gradiente veniva modificato come di seguito: 95% A/5% B per 2 min, 75% A/25% B per 8 min, 60% A/40% B per 10 min, 50% A/50% B per 16 min, e 0% A/100% B per 14 min. Tale composizione veniva mantenuta per 10 minuti poi ritornava a un'iniziale condizione ed equilibrio per 13 min; il tempo totale di corsa era di 73 minuti.

I composti venivano valutati tramite detector a fotodiodi ad una lunghezza d'onda di 280 nm il tutto controllato dal sistema operativo "ChemStation2" (Agilent Technologies), con il quale è stata eseguita anche l'elaborazione dei dati cromatografici (Palo Alto CA. USA) (24).

RISULTATI E DISCUSSIONE.

Caratterizzazione delle olive fermentate "al naturale" in industrial scale.

La composizione fenolica delle olive ottenute dopo deamarizzazione industriale evidenzia una diversa distribuzione delle principali sostanze fenoliche, in relazione alla cultivar di appartenenza (Tabelle 2 e 3). I composti maggiormente presenti risultano essere il verbascoside e l'idrossitirosolo (3,4-DHPEA); il primo composto, un cinnamil derivato, mostra una notevole differenziazione in base alla varietà, fattore genetico questo, che insieme allo stadio di maturazione del frutto, può ritenersi la più importante variabile per le eterogenee concentrazioni osservate. Il verbascoside infatti, non è interessato dall'attività delle β-glucosidasi prodotte



dai batteri lattici responsabili dell'idrolisi dei secoiridoidi glucosidi; le variazioni osservate per questo composto, possono essere pertanto, attribuite alla cultivar e in secondo luogo, allo stadio di maturazione del frutto.

Per questi motivi il verbascoside può essere considerato una sostanza che influenza le diverse condizioni di deamarizzazione, da dover adattare alla diverse tipologie varietali, in base anche alla concentrazione di tale composto, data la sua forte attività batteriostatica, tipica comunque, non solo di questo composto ma di molte altre sostanze fenoliche di natura secoroidea. Come molti autori hanno sottolineato con i loro studi, il verbascoside ed i derivati agliconici dell'oleuropeina (es. 3,4-DHPEA-EDA), hanno infatti, una forte capacità inibente nei confronti della crescita di una grande quantità di microrganismi, non solo coliformi o batteri patogeni in genere, come detto precedentemente, ma anche nei confronti degli stessi ceppi di batterio lattico usati per la deamarizzazione biologica come la specie *Lactobacillus plantarum*.(15-19) Per quel che riguarda i contenuti più o meno elevati (e "cultivar dipendenti") in idrossitirosolo e tirosolo della polpa delle olive deamarizzate a livello industriale (Tabelle 2 e 3), essi sono da ricondurre all'attività enzimatica delle β -glucosidasi prodotte dai batteri lattici naturalmente selezionatesi nelle salamoie nel corso del processo di stoccaggio delle olive e della successiva fermentazione in salamoia.

La presenza dell'idrossitirosolo in particolare, risulta molto importante data la sua dimostrata e riconosciuta attività biologica (2-5). L'istogramma di Figura 1 mette in evidenza il particolare della variabilità di questo composto in base alla cultivar di appartenenza (Figura 1).

Osservando la somma delle varie frazioni fenoliche analizzate (ultima riga delle Tabelle 2 e 3) è possibile notare l'effetto legato alla variabilità agronomica e tecnologica di produzione di queste olive da mensa che si riflette sul differente contenuto in sostanze fenoliche provenienti dalla stessa varietà ma da aziende diverse (vedi le Cv. Itrana bianca e nera e Peranzana).

Questo a conferma di quanto introdotto circa la mancanza di standardizzazione nel processo di deamarizzazione spontanea, che porta all'ottenimento di prodotti con diverso contenuto in secoiridoidi.

I risultati ottenuti dimostrano inoltre, la totale assenza di oleuropeina, demetiloleuropeina e ligustroside glucosidi e degli intermedi di reazione di idrolisi di questi (3,4-DHPEA-EDA e p-HPEA-EDA) nel frutto, a dimostrazione del fatto che il processo di deamarizzazione biologica in questi campioni, è avvenuta in forma completa.

Questo aspetto risulta particolarmente importante soprattutto se riferito ad olive provenienti da cultivar quali Nocellara del Belice o Peranzana poste in salamoia ad uno stato di maturazione precoce; va ricordato infatti, che la concentrazione fenolica nella drupa di oleuropeina e ligustroside in particolare, e molto meno quella del verbascoside, tende a variare con la maturazione, essendo molto elevata nelle prime fasi di maturazione e molto scarsa in condizioni di surmaturazione.

Questo fenomeno e quindi, lo stadio di maturazione che le olive hanno raggiunto al momento in cui vengono messe a "deamarizzare", incide notevolmente sullo svolgimento del processo e soprattutto sull'attività microbica dei batteri lattici, che come già ricordato, può rallentare e addirittura bloccarsi in presenza di concentrazioni fenoliche intollerabili per i ceppi fermentanti. Il processo biologico quindi, sarà più difficile da avviare su olive poste a fermentare ad un grado di maturazione precoce rispetto alle stesse trattate ad uno stadio avanzato.

Riguardo le varietà da noi selezionate ed in generale, tale fenomeno risulta molto evidente se si fa riferimento a cultivar come l'Itrana per la quale è prevista ormai da diversi anni, la produzione di due differenti tipologie di olive appartenenti alla stessa varietà (l'Itrana, appunto) ma poste a deamarizzare a due stadi di maturazione differenti: l'Itrana "nera", ottenuta da olive raccolte ad un grado di maturazione particolarmente avanzato, corrispondente alla profonda pigmentazione della polpa, e l'Itrana "bianca", raccolta e processata ad uno stato di maturazione precoce.

L'idrolisi dei secoiridoidi glucosidi e il processo fermentativo da parte dei batteri lattici si svol-

gerà in maniera diversa a seconda del tipo di prodotto: sarà veloce per le olive I. nera e particolarmente lenta per le I. bianca.

Questa differenza tecnologica, oltre al già citato diverso contenuto fenolico, è da attribuire anche ad una certa variazione di disponibilità dei substrati di fermentazione. Come ricordato in precedenza, i batteri lattici per accrescersi oltre a fermentare gli zuccheri semplici costitutivi del frutto dell'oliva rilasciati nella salamoia nel corso della deamarizzazione, che vengono trasformati in acido lattico (con conseguente abbassamento del pH del mezzo), utilizzano altri attivatori di crescita come le sostanze azotate, che sono più facilmente rilasciate dalle olive in avanzato stadio di maturazione. La consistenza della polpa del frutto, infatti, tende a cambiare profondamente nel corso della maturazione, riducendosi progressivamente e favorendo, pertanto un maggior rilascio di componenti cellulari come i polifenoli ed i composti azotati, dalle pareti cellulari verso le salamoie.

Da quanto sopra scritto si deduce quindi, che la flora microbica di una salamoia dove sono poste olive mature sarà avvantaggiata nel processo di deamarizzazione da una serie di condizioni che vanno da un minor contenuto naturale di polifenoli del frutto ad un maggior rilascio di questi (fenil alcoli ma anche verbasco side) nelle salamoie, a una maggiore disponibilità di nutrienti per il suo accrescimento.

Addirittura si può ipotizzare che la deamarizzazione biologica di olive surmature sarà maggiormente dovuta ad un certo "addolcimento" naturale delle olive piuttosto che all'intervento dei batteri lattici.

D'altro canto, la flora microbica che invece sarà in grado di portare a termine il processo di fermentazione e quindi di deamarizzazione, di olive definite "verdi" o "bianche" potrà certamente definirsi più efficiente e capace di accrescersi in condizioni di certo non ottimali.

Tabella 2. Composizione fenolica (mg/kg) delle polpe di oliva deamarizzate al naturale a livello industriale, senza l'impiego di starters¹.

	<i>Itrana Bianca I</i>	<i>Itrana Bianca II</i>	<i>Itrana Nera I</i>	<i>Itrana Nera II</i>	<i>Itrana Nera III</i>
3,4-DHPEA	818,9 ± 0,4	1111,1 ± 0,3	794,2 ± 0,3	828,6 ± 0,3	898,4 ± 0,4
<i>p</i> -HPEA	136,8 ± 0,1	165,5 ± 0,1	80,6 ± 0,02	94,4 ± 0,5	92,1 ± 0,03
Verbascoside	n.d.	1144,1 ± 0,0	956,3 ± 1,6	1642,1 ± 8,1	937,2 ± 2,1
Acido caffeico	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
3,4-DHPEA-EDA	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
Oleuropeina	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
Isomero verbascoside	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
Somma delle frazioni fenoliche	955,7 ± 0,5	2420,8 ± 0,4	1831,1 ± 1,6	2565,1 ± 8,1	1927,8 ± 2,1

¹ I risultati sono espressi come media di tre ripetizioni ± la deviazione standard. I suffissi I, II, III stanno ad indicare prodotti appartenenti alla stessa *cultivar* ma provenienti da aziende diverse. Legenda: n.d. = non determinato.

Tabella 3. Composizione fenolica (mg/kg) delle polpe di oliva deamarizzate al naturale a livello industriale, senza l'impiego di starters¹.

	<i>Peranzana I</i>	<i>Peranzana II</i>	<i>Peranzana III</i>	<i>Cellina di Nardò</i>	<i>Nocellara del Belice</i>
3,4-DHPEA	2007,9 ± 0,0	1997,5 ± 0,1	1923,8 ± 0,4	1403,3 ± 0,2	1042,2 ± 0,0
<i>p</i> -HPEA	279,7 ± 0,2	289,3 ± 0,1	365,7 ± 0,1	256,8 ± 0,1	203,4 ± 0,0
Verbascoside	13904,5 ± 0,3	22066,4 ± 1,5	16579,2 ± 4,4	717,3 ± 0,4	n.d.
Acido caffeico	318,3 ± 0,01	114,0 ± 0,7	54,2 ± 0,1	19,0 ± 0,0	n.d.
3,4-DHPEA-EDA	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
Oleuropeina	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
Isomero verbascoside	2338,1 ± 1,2	4163,9 ± 0,8	4678,9 ± 1,6	n.d.	n.d.
Somma delle frazioni fenoliche	18848,4 ± 1,2	28631,2 ± 1,8	23601,9 ± 4,7	2396,4 ± 0,4	1245,6 ± 0,1

¹ I risultati sono espressi come media di tre ripetizioni ± la deviazione standard. I suffissi I, II, III stanno ad indicare prodotti appartenenti alla stessa *cultivar* ma provenienti da aziende diverse. Legenda: n.d. = non determinato.



Da qui si può concludere che la selezione di batteri lattici caratterizzati da una buona attività deamarizzante, andrebbe sviluppata a partire dalle salamoie industriali provenienti proprio da quest'ultima tipologia di olive.

Nelle Tabelle 4 e 5 sono riportati i risultati delle analisi del contenuto in polifenoli condotte sulle salamoie delle due diverse tipologie di oliva della Cv. Itrana ("bianca" e "nera"), Peranzana, Cellina di Nardò e Nocellara del Belice.

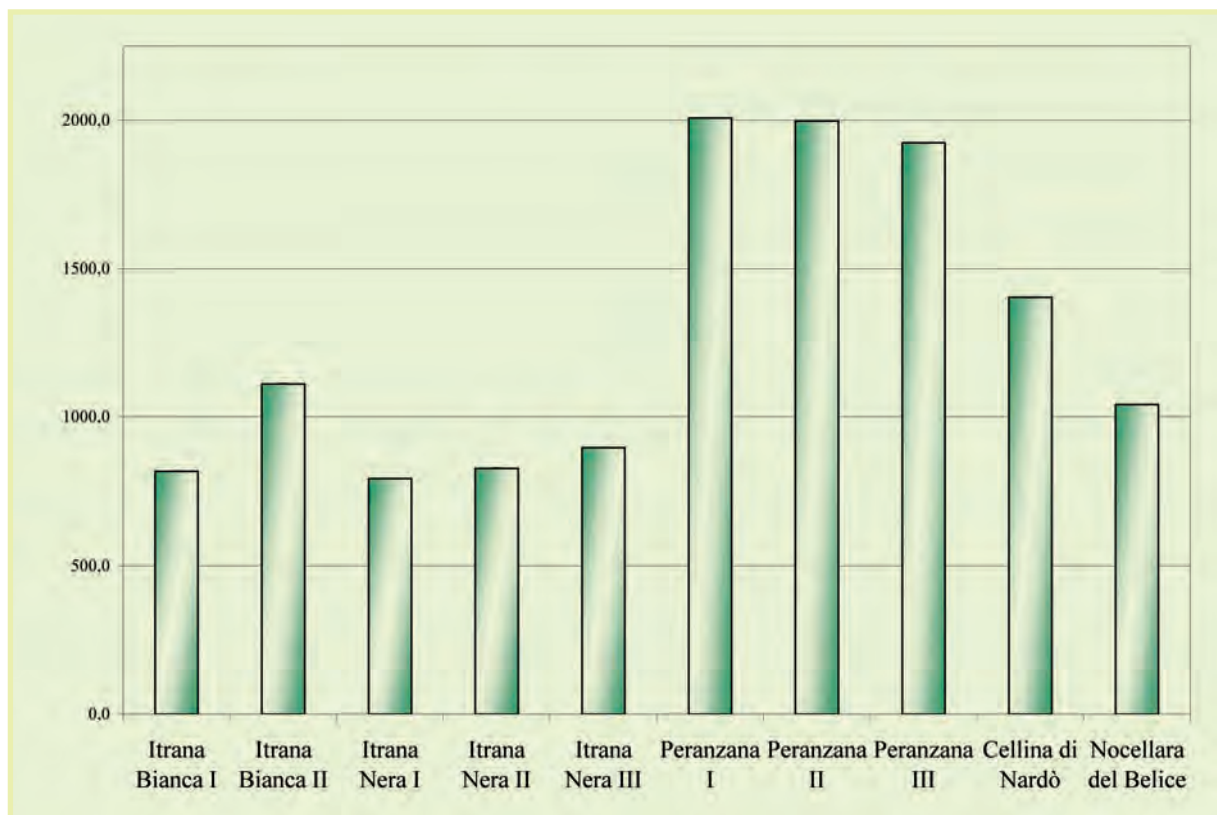


Fig. 1. Figura 1. Contenuto in idrossitiroso (3,4-DHPEA) (mg/kg) delle polpe di olive fermentate al naturale a livello industriale senza l'impiego di starters. I risultati sono espressi come media di tre ripetizioni \pm la deviazione standard. I suffissi I, II, III stanno ad indicare prodotti appartenenti alla stessa cultivar ma provenienti da aziende diverse.

Per tutte le varietà studiate si può rilevare la grande quantità di sostanze fenoliche che vengono rilasciate nel mezzo di fermentazione.

Tabella 4. Concentrazione fenolica (mg/L) delle salamoie oliva deamarizzate al naturale a livello industriale, senza l'impiego di starters¹.

	<i>Itrana Bianca I</i>	<i>Itrana Bianca II</i>	<i>Itrana Nera I</i>	<i>Itrana Nera II</i>	<i>Itrana Nera III</i>
3,4-DHPEA	1059,2 \pm 1,7	1301,9 \pm 4,9	1154,7 \pm 0,9	1053,8 \pm 5,6	1164,5 \pm 5,1
<i>p</i> -HPEA	177,2 \pm 3,7	207,1 \pm 1,9	133,9 \pm 9,6	130,4 \pm 3,0	153,1 \pm 1,1
Verbascoside	n.d.	290,9 \pm 6,4	n.d.	933,2 \pm 43,6	918,6 \pm 4,8
Acido caffeico	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
3,4-DHPEA-EDA	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
Oleuropeina	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
Isomero verbascoside	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
Somma delle frazioni fenoliche	1236,4 \pm 4,0	1799,9 \pm 8,3	1288,6 \pm 9,6	2117,5 \pm 44,1	2236,1 \pm 7,1

¹ I risultati sono espressi come media di tre ripetizioni \pm la deviazione standard. I suffissi I, II, III stanno ad indicare prodotti appartenenti alla stessa *cultivar* ma provenienti da aziende diverse. Legenda: n.d. = non determinato.

Tabella 5. Concentrazione fenolica (mg/L) delle salamoie oliva deamarizzate al naturale a livello industriale, senza l'impiego di starters¹.

	<i>Itrana Bianca I</i>	<i>Itrana Bianca II</i>	<i>Itrana Nera I</i>	<i>Itrana Nera II</i>	<i>Itrana Nera III</i>
3,4-DHPEA	1059,2 ± 1,7	1301,9 ± 4,9	1154,7 ± 0,9	1053,8 ± 5,6	1164,5 ± 5,1
p-HPEA	177,2 ± 3,7	207,1 ± 1,9	133,9 ± 9,6	130,4 ± 3,0	153,1 ± 1,1
Verbascoside	n.d.	290,9 ± 6,4	n.d.	933,2 ± 43,6	918,6 ± 4,8
Acido caffeico	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
3,4-DHPEA-EDA	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
Oleuropeina	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
Isomero verbascoside	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
Somma delle frazioni fenoliche	1236,4 ± 4,0	1799,9 ± 8,3	1288,6 ± 9,6	2117,5 ± 44,1	2236,1 ± 7,1

¹ I risultati sono espressi come media di tre ripetizioni ± la deviazione standard. I suffissi I, II, III stanno ad indicare prodotti appartenenti alla stessa *cultivar* ma provenienti da aziende diverse. Legenda: n.d. = non determinato.

Olive "al naturale" fermentate in lab-scale.

Le analisi della composizione fenolica delle olive da tavola trattate in lab scale (Tabelle 6 e 7), delle stesse tipologia e varietà prodotte a livello industriale, permettono di evidenziare alcuni aspetti importanti relativi alla cultivar di appartenenza; il rapporto tra oleuropeina e verbascoside in particolare, sembra essere differenziato in base alla varietà di appartenenza, a dimostrazione della notevolissima variabilità genetica delle olive da mensa tipiche italiane, la quale si traduce in una certa difficoltà nella standardizzazione del processo di deamarizzazione.

Come già sottolineato precedentemente, contrariamente a quanto avviene con la deamarizzazione chimica (metodo "spagnolo"), per la quale il forte effetto idrolizzante dell'NaOH (idrossido di sodio o "soda") su tutti i composti fenolici glucosidici, verbascoside compreso, consente di velocizzare notevolmente il processo, nella deamarizzazione biologica, la composizione fenolica del frutto di partenza gioca un ruolo fondamentale nella riuscita e nella durata del processo stesso.

Da qui, emerge la necessità di selezionare ceppi di batteri lattici in grado di agire ad ampio spettro, ossia di fermentare olive di cultivar diverse per patrimonio in sostanze fenoliche.

Una fase importante del seguente lavoro, condotto presso il laboratorio del dipartimento di Scienze degli Alimenti della facoltà di Agraria dell'Università degli Studi di Teramo, ha riguardato pertanto, la valutazione a livello di lab scale, dell'effetto fermentante e deamarizzante di due ceppi di batteri lattici, sulle stesse tipologie di oliva appartenenti alle cultivar italiane, individuando successivamente le varie differenze tecnologiche e qualitative tra una fermentazione al naturale condotta senza starters (olive prodotte in industrial scale) e una con l'impiego di starters (olive prodotte in lab scale).

I batteri lattici usati come inoculo di fermentazione erano i ceppi 1MO e C8S9 selezionati per le loro peculiari proprietà deamarizzanti e per le elevate performances tecnologiche (capacità di crescita ad elevate concentrazioni saline ed attività fermentanti ed idrolitiche delle frazioni fenoliche, in presenza di composti ad attività batteriostatica quali verbascoside e 3,4-DHPEA-EDA).

I dati ottenuti dalle analisi della composizione fenolica delle polpe di oliva post-fermentazione (Tabelle 6 e 7) mostrano l'elevata efficienza dei batteri selezionati nel condurre la fase di deamarizzazione a partire da una diversa concentrazione fenolica.

In tutti i campioni analizzati infatti, non sono state riscontrate quantità rilevabili di oleuropeina e demetiloleuropeina glucosidi così come dei corrispondenti derivati agliconici. A questo risultato, che di per se è indice di un'efficiente attività delle β-glucosidasi prodotte dai ceppi batterici, si associa l'elevato contenuto in idrossitirosolo (3,4-DHPEA) e tirosolo libero (p-HPEA), che rappresentano i composti terminali del processo idrolitico.

Tale processo infatti, come osservato già in precedenza, oltre alla scissione del legame glucosidico tra glucosio ed acido elenico, prevede anche l'idrolisi del legame d'estere tra il sud-



detto acido e i fenil-alcoli.

Anche nelle prove in lab scale, al fenomeno di idrolisi è seguito il relativo rilascio di elevate concentrazioni di tirosolo ed idrossitirosolo libero, oltre che del verbascoside, nelle salamoie (Tabelle 8 e 9), come osservato per i prodotti ottenuti industrialmente (Tabelle 4 e 5).

Tabella 6. Composizione fenolica (mg/kg) delle polpe di oliva prima della deamarizzazione e dopo essere state deamarizzate a livello di lab-scale, con l'impiego di starters selezionati ¹.

Composti fenolici	<i>Itrana "bianca"</i>				<i>Nocellara del Belice</i>			
	P.D.	D.D.		P.D.	D.D.			
		IMO	C8S9		IMO	C8S9		
3,4-DHPEA	429,30 ± 24,9	1037,3 ± 60,2	1034,2 ± 60	341,8 ± 19,8	652,0 ± 37,8	648,3 ± 37,6		
<i>p</i> -HPEA	38,26 ± 1,8	119,0 ± 5,7	61 ± 2,9	28,9 ± 1,4	147,6 ± 7,1	151,1 ± 7,3		
Verbascoside	2177,9 ± 148,1	984,0 ± 57,1	1021,3 ± 59,2	983,6 ± 47,2	345,3 ± 16,6	394,6 ± 18,9		
3,4-DHPEA-EDA	742,7 ± 44,6	n.d.		1725,8 ± 86,3	n.d.			
Oleuropeina	7973,4 ± 398,7	n.d.		770,7 ± 38,5	n.d.			
Somma delle frazioni fenoliche	11361,5 ± 428,3	2140,3 ± 83,1	2116,5 ± 84,4	3850,8 ± 107,5	1144,9 ± 41,9	1194,0 ± 42,7		

¹ I risultati sono espressi come media di tre ripetizioni ± la deviazione standard.
 Legenda P.D: = prima della deamarizzazione; D.D. = dopo la deamarizzazione;
 n.d. = non determinato.

Tabella 7. Composizione fenolica (mg/kg) delle polpe di oliva prima della deamarizzazione e dopo essere state deamarizzate a livello di lab-scale, con l'impiego di starters selezionati¹.

Composti fenolici	<i>Peranzana</i>				<i>Cellina di Nardò</i>			
	P.D.	D.D.		P.D.	D.D.			
		IMO	C8S9		IMO	C8S9		
3,4-DHPEA ²	978,5 ± 56,8	2388,0 ± 139	2009,4 ± 101	304,0 ± 17,6	526,4 ± 30,5	608,1 ± 35,3		
<i>p</i> -HPEA	172,9 ± 8,3	256,2 ± 12,3	242,4 ± 12,1	26,1 ± 1,3	82,6 ± 4,0	102,2 ± 4,9		
Verbascoside	2899,2 ± 139,2	13999,0 ± 952	13884,0 ± 694	1283,2 ± 87,3	612,3 ± 41,6	657,3 ± 44,7		
3,4-DHPEA-EDA	8705,2 ± 435,3	n.d.		1659,2 ± 99,6	n.d.			
Oleuropeina	1943,0 ± 97,2	n.d.		7387,9 ± 369,4	n.d.			
Somma delle frazioni fenoliche	40792,0 ± 1463	16643,0 ± 962	16135,0 ± 702	10660,4 ± 392,8	1221,3 ± 51,8	1367,5 ± 57,1		

¹ I risultati sono espressi come media di tre ripetizioni ± la deviazione standard.
 Legenda: P.D = prima della deamarizzazione; D.D. = dopo la deamarizzazione;
 n.d. = non determinato.

Tale aspetto consente di puntualizzare che questo prodotto secondario della lavorazione delle olive da tavola, rappresenta un problema dal punto di vista della eco-compatibilità del processo di deamarizzazione.

Lo smaltimento delle salamoie rappresenta infatti, un costo non indifferente per le industrie del settore.

La composizione fenolica della salamoia è spesso caratterizzata da un'alta concentrazione di due importanti composti fenolici, l'idrossitirosolo ed il verbascoside, entrambi con provate e spiccate proprietà biologiche (2-5). Il verbascoside in particolare, deve le sue importanti proprietà salutistiche alla presenza nella sua struttura chimica di due composti con proprietà biologiche, lo stesso idrossitirosolo, e l'acido caffeico.

Il suo recupero pertanto, come quello del 3,4-DHPEA, potrebbe interessare diversi settori di produzione degli alimenti arricchiti di sostanze benefiche di tipo naturale.

Il verbascoside in particolare, potrebbe essere usato come inibitore della flora microbica patogena e non, in alcune filiere dell'industria alimentare.

Da qui l'interesse a definire delle tecnologie di recupero della frazione fenolica che prevedano la separazione e la successiva purificazione dei composti fenolici delle salamoie, impiegando ad esempio tecnologie su membrana e sistemi di assorbimento selettivo di tali composti.

Tabella 8. Composizione fenolica (mg/L) delle salamoie prima della deamarizzazione e dopo deamarizzazione delle olive a livello di lab-scale, con l'impiego di *starters* selezionati¹.

	<i>Itrana "bianca"</i>				<i>Nocellara del Belice</i>		
	P.D.	D.D.		P.D.	D.D.		
		IMO	C8S9		IMO	C8S9	
3,4- DHPEA ²	16,1 ± 0,9	557,0 ± 32,3	697,7 ± 40,5	n.d.	981,0 ± 56,9	966,4 ± 56,0	
p-HPEA	2,3 ± 0,1	180,2 ± 8,6	171,8 ± 8,2	n.d.	119,1 ± 5,7	60,8 ± 2,9	
Verbascoside	n.d.	589,2 ± 28,3	525,8 ± 25,2	n.d.	1089 ± 63,2	984,0 ± 49,2	
3,4-DHPEA-EDA	31,5 ± 1,6	n.d.		n.d.	n.d.		
Oleuropeina	39,8 ± 2	n.d.		n.d.	n.d.		
Somma delle frazioni fenoliche	89,7 ± 2,7	1326,4 ± 43,8	1395,2 ± 48,4	n.d.	2189,1 ± 85,2	2011,2 ± 74,6	

¹ I risultati sono espressi come media di tre ripetizioni ± la deviazione standard.
 Legenda P.D: = prima della deamarizzazione; D.D. = dopo la deamarizzazione;
 n.d. = non determinato.

Tabella 9. Composizione fenolica (mg/L) delle salamoie prima della deamarizzazione e dopo deamarizzazione delle olive a livello di lab-scale, con l'impiego di *starters* selezionati¹.

	<i>Cv. Peranzana</i>				<i>Cv. Cellina di Nardò</i>		
	P.D.	D.D.		P.D.	D.D.		
		IMO	C8S9		IMO	C8S9	
3,4- DHPEA ²	177,4 ± 10,3	2409,3 ± 139,7	2132,1 ± 123,7	n.d.	533,3 ± 30,9	690,6 ± 40,1	
p-HPEA	31,5 ± 1,5	319,8 ± 15,3	331,1 ± 15,9	n.d.	112,1 ± 5,4	38,3 ± 1,8	
Verbascoside	167,9 ± 11,4	13485 ± 917,0	13512,8 ± 918,9	n.d.	947,2 ± 64,4	879,0 ± 59,8	
3,4-DHPEA-EDA	386,4 ± 19,3	n.d.		n.d.	n.d.		
Oleuropeina	301,1 ± 15,1	n.d.		n.d.	n.d.		
Somma delle frazioni fenoliche	1064,4 ± 29,0	16214,1 ± 927,7	15976,0 ± 927,3	n.d.	1592,6 ± 71,7	1607,8 ± 72,0	

¹ I risultati sono espressi come media di tre ripetizioni ± la deviazione standard.
 Legenda P.D: = prima della deamarizzazione; D.D. = dopo la deamarizzazione;
 n.d. = non determinato.

CONCLUSIONI.

Dall'analisi complessiva dei risultati si evidenzia che il processo di deamarizzazione biologica, ossia condotto ad opera di batteri lattici, ha un diverso andamento che dipende da molteplici fattori:

1. *cultivar di appartenenza dell'oliva da trattare;*
2. *epoca di maturazione delle olive al momento della messa in salamoia;*
3. *deamarizzazione condotta da ceppi di batteri lattici autoctoni o di starters selezionati.*

Le nostre indagini hanno ampiamente dimostrato, che nei campioni fermentati in industrial scale la riuscita e la durata del processo di deamarizzazione biologica condotta da batteri lattici spontanei, dipendevano strettamente dalla composizione quali-quantitativa dei polifenoli della drupa e quindi, dalla cultivar di appartenenza e dall'epoca di maturazione in cui i frutti venivano posti in salamoia, ma anche dalle diverse condizioni legate all'agroambiente, così come alle diverse ricette della "tradizione" locale.

Con l'ausilio di inoculi di *Lactobacillus plantarum* (starters selezionati) le prove di deamarizzazione biologica in lab scale dimostrano che il processo viene portato a termine in tempi decisamente più ridotti rispetto alla pratica condotta con microrganismi spontanei, indipendentemente dalla cultivar o dallo stato di maturazione del frutto.

Il rapido abbassamento di pH, inoltre, permette di ottenere un prodotto alimentare più sicuro, e di evitare eccessiva degradazione ossidativa dei composti fenolici come l'idrossitiroso, mantenendo più elevate le proprietà salutistiche delle olive.

L'elevata concentrazione di fenoli quali verbascoside e idrossitiroso nelle salamoie suggerisce, infine la possibilità di un loro eventuale recupero per poter essere poi utilizzati in campo alimentare.



RINGRAZIAMENTI.

Il lavoro è stato eseguito con il contributo di UNAPROL nell'ambito del Programma di attività ai sensi del Reg. CE n. 867/2008. Progettazione, realizzazione e gestione di sistemi di controllo del rispetto delle norme di autenticità, qualità e commercializzazione dell'olio di oliva e delle olive da mensa immessi sul mercato.

Si ringraziano i responsabili delle Aziende aderenti al progetto per aver fornito i campioni di oliva. Sentiti ringraziamenti, vanno in particolare, ai Dottori Agronomi Genesio Leonardi e Nazario D'errico per l'indispensabile supporto tecnico fornito.

BIBLIOGRAFIA.

- (1) International Olive Oil Council, IOOC. Unified qualitative standard applying to table olives in international trade, 100C, Madrid (1980).
- (2) Owen R.W., Haubner R., Mier W., Giacosa A, Hull W.E., Spiegelhalder B., Bartsch H. Isolation, structure elucidation and antioxidant potential of the major phenolic and flavonoids compound in brined olive drupes. *Food Chem. Toxicol.* 41, 703-717 (2003).
- (3) Servili, M., Selvaggini R., Esposto, S., Taticchi A., Montedoro, G.F., Morozzi, G. Health and sensory properties of virgin olive oil hydrophilic phenols: agronomic and technological aspects of production that affect their occurrence in the oil. *J. Chromatogr. A.* 1054, 113-127 (2004).
- (4) Montedoro G.F., Esposto S., Taticchi A., Selvaggini R., Urbani S., Servili M. "Chemical constituents of olive products and their biological activity". *Proceeding of the Second international seminar Olivebioteq 2006 "Biotechnology and quality of olive tree products around the Mediterranean basin"*, Mazara del Vallo (TP), Italy, 5-10 November 2006, Special Seminars and Invited Lectures, pp. 237-244 (2006).
- (5) Covas M.I. Bioactive effects of olive oil phenolic compounds in humans: Reduction of heart disease factors and oxidative damage. *Inflammopharmacology* 16, 216-218 (2009).
- (6) Servili M., Esposto S., Fabiani R., Urbani S., Taticchi A., Mariucci F., Selvaggini R., Montedoro G.F. Phenolic compounds in olive oil: antioxidant, health and sensory activities according to their chemical structure. *Inflammopharmacology*, 17, 76-84 (2009).
- (7) Garrido M.J., Fernández Díez M.R. A. *Table olives*. Chapman & Hall, London (UK) (1997).
- (8) Lanza B., Corsetti A. "Olive da mensa". In *L'ulivo e l'olio*. Coll. *Coltura & Cultura*, Bayer Crop Science S.r.l. Ed., Milano (Italy), pp. 636-655 (2009).
- (9) Ciafardini G., Gomes T. Triglyceride hydrolysis in table olives debittered with microbiological and chemical processes. *Chem. Mikrobiol. Technol. Lebensm.* 17, 172 - 177 (1995).
- (10) Sanchez A.-H., Rejano L., Montano A., de Castro A. Utilization at high pH of starter cultures of lactobacilli for Spanish-style green olive fermentation. *Int. J. Food Microbiol.* 67., 115-122 (2001).
- (11) Ciafardini G., Marsilio V., Lanza B., Pozzi N. (1994) Hydrolysis of oleuropein by *Lactobacillus plantarum* strains associated with olive fermentation *Appl. Environ. Microbiol.* 60, 4142-4147.
- (12) Tassou C.C., Panagou E.Z., Katsaboxakis K.Z. Microbiological and physicochemical changes of naturally black olives fermented at different temperatures and NaCl levels in the brines. *Food Microbiol.* 19, 637-644 (2002).
- (13) Nychas G.-J.E., Panagou E.Z., Parker M.L., Waldron K.W., Tassou C.C. Microbial colonization of naturally black olives during fermentation and associated biochemical activities in the cover brine. *Lett. Appl. Microbiol.* 34, 173-177 (2002).
- (14) Piga A., Agabbio M. and Farris G.A. Influenza di alcuni interventi tecnologici nella trasformazione al naturale di olive da mensa. *Industrie Agrarie*, XLI: 1-6 (2002).
- (15) Servili, M., Settanni, L., Veneziani, G., Esposto, S., Massitti, O., Taticchi, A., Urbani, S., Montedoro, G. F., Corsetti, A. The use of *Lactobacillus pentosus* 1MO to shorten the debittering process time of black table olives (Itrana and Leccino cv.): a pilot-scale application. *J. Agric. Food Chem.* 54, 3869-3875 (2006).
- (16) Servili M., Taticchi A., Veneziani G., Urbani S., Esposto S., Massitti O., Corsetti A., Montedoro G.F. Nuove tecnologie di deamarizzazione biologica per il miglioramento della qualità delle olive da tavola. *Riv. Frutticoltura e Ortofloricoltura* 3, 22-26 (2006).
- (17) Servili, M., Minnocci, A., Veneziani, G., Taticchi, A., Urbani, S., Esposto, S., Sebastiani, L., Valmorri, S., Corsetti, A. Compositional and tissue modifications induced by the natural fermentation process in table olives. *J. Agric.*

Food Chem. 56, 6389–6396 (2008).

(18) Servili M., Petruccioli M., Esposito S., Urbani S., Taticchi A. "Utilizzazione dei reflui oleari". In *Oleum*, Collana "Monografie", Il Sole 24 Ore, Edagricole Ed. (2011).

(19) Servili M., Esposito S., Veneziani G., Urbani S., Taticchi A., Di Maio I., Selvaggini R., Sordini B., Montedoro GF. Improvement of bioactive phenol content in virgin olive oil with an olive-vegetation-water concentrate produced by membrane treatment. *Food Chem.*, 124, 1308–1315 (2011).

(20) Servili M., Baldioli M., Selvaggini R., Macchioni A., Montedoro G. F. Phenolic compounds of olive fruit: one- and two dimensional nuclear magnetic resonance characterization of nüzhenide and its distribution in the constitutive parts of fruit. *J. Agric. Food Chem.*, 47, 12–18 (1999).

(21) Montedoro G.F., Servili M., Baldioli M., Selvaggini R., Miniati E., Macchioni A. Simple and hydrolyzable compounds in virgin olive oil. 3. Spectroscopic characterization of the secoiridoids derivatives. *J. Agric. Food Chem.* 41, 2228–2234 (1993).

(22) Servili M., Baldioli M., Selvaggini R., Miniati E., Macchioni A., Montedoro G. F. HPLC evaluation of phenols in olive fruit, virgin olive oil, vegetation waters and pomace and 1D and 2DNMR characterization. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 76, 873-882 (1999).

(23) Montedoro GF., Servili M., Baldioli M., Miniati E. Simple and hydrolyzable phenolic compounds in virgin olive oil. 1. Their extraction, separation, and quantitative and semiquantitative evaluation by HPLC. *J. Agric. Food Chem.*, 40, 1571-1576 (1992).

(24) Selvaggini R., Servili M., Urbani S., Esposito S., Taticchi A., Montedoro GF. Evaluation of phenolic compounds in virgin olive oil by direct injection in high-performance liquid chromatography with fluorimetric detection. *J. Agric. Food Chem.* 54, 2832-2838 (2006).





FILIERA OLIVICOLA

Disciplinare Olive da Tavola Italiane di Alta Qualità

Data	Rev.	Descrizione	Verifica	Approvazione
01-10-09	Rev04	Revisione	Rq unaprol	

REGOLE GENERALI

1.1 Organizzazione

La Società Consortile Unaprol, di seguito Organizzazione, riunisce le filiere dell'olio extravergine di oliva e delle olive da tavola di alta qualità che possiedono una particolare connotazione territoriale, legata alle specificità del sistema olivicolo italiano.

L'Organizzazione ha sede in Roma, in via Rocca di Papa n. 12 e svolge la propria attività su tutto il territorio nazionale per il tramite di unità locali o di professionisti cui affida specifici incarichi atti al perseguimento dei propri scopi.

1.2 Scopo

L'Organizzazione intende:

- promuovere e valorizzare, in Italia e all'estero, la produzione olivicola nazionale e l'olio extravergine di oliva e delle olive da tavola di alta qualità e di esclusiva origine italiana, che abbia caratteristiche migliorative rispetto agli indici minimi imposti dalla legge;
- promuovere e diffondere l'adozione di un documento che disciplini la produzione olive da tavola di Alta Qualità (AQ), da applicare presso tutti i soggetti della filiera olivicola;
- comunicare al pubblico l'esistenza del disciplinare alta qualità che ne garantisce l'applicazione da parte dei soggetti della filiera;
- comunicare ai consumatori il valore del "prodotto tracciato alta qualità" come espressione e garanzia di prodotto ad elevato standard qualitativo;
- realizzare ricerche di mercato sulla produzione ed il consumo di olive da tavola italiane di alta qualità;
- realizzare campagne informative per conferire alle olive da tavola italiane un maggior valore, realmente corrispondente all'immagine di cui il made in Italy gode oggi nel mondo.

1.3 Struttura del documento.

Il presente disciplinare è strutturato secondo le seguenti sezioni:

- regole generali;
- sezione agronomica;
- sezione trasformazione e conservazione;
- sezione distribuzione;
- sezione ristorazione;
- sezione etica.

Le sezioni sono suddivise in fasi, in ognuna delle quali sono descritte e schematizzate le procedure evidenziando i requisiti oggetto di certificazione o raccomandazione da parte dell'ente di certificazione.



1.4 Prerequisiti

Gli operatori della filiera che contribuiscono alla produzione di olive da tavola italiane di alta qualità, si impegnano a:

- garantire l'esclusiva origine italiana delle olive;
- aderire a sistemi di rintracciabilità di filiera certificati ai sensi della norma UNI EN ISO 22005:08;
- utilizzare materia prima proveniente da oliveti gestiti con tecniche a basso impatto ambientale (lotta integrata);
- rispettare il presente disciplinare;
- accettare, nel proprio ambito di competenza, i controlli dell'Organizzazione e le verifiche ispettive dell'Organismo di Controllo;
- mantenere nel tempo i requisiti di conformità del prodotto al disciplinare stesso.

1.5. Requisiti

Le olive da tavola di alta qualità vengono prodotte secondo le procedure previste dal presente disciplinare e rispettano i prerequisiti ed i seguenti parametri chimici, nutrizionali e sensoriali per la salamoia di condizionamento (Tabella 1) e per 100 g di porzione edibile (Tabelle 2 e 3 e 4).

Tabella 1. Parametri chimici per la salamoia di condizionamento.

PARAMETRI CHIMICI	OLIVE DA TAVOLA AQ	METODICA
pH	max. 4.3	COI/OT/NC No 1
acidità (g ac. lattico/100ml)	min 0.3	COI/OT/NC No 1
concentrazione salina (g/100 ml)	min. 6	COI/OT/NC No 1

Tabella 2. Parametri nutrizionali per 100g di porzione edibile.

PARAMETRI NUTRIZIONALI	OLIVE DA TAVOLA AQ	METODICA
contenuto energetico (kcal)	150-300	Direttiva 90/496/CEE e Direttiva 2008/100/CE
proteine (g)	1-2,5	
carboidrati (g)	0-9	
carboidrati di cui zuccheri (g)	0-9	
grassi (g)	15-30	
grassi di cui saturi (g)	0-6	
fibra alimentare (g)	2-6	
sodio (g)	0-2	

Tabella 3. Composizione in idrossitirosolo e suoi derivati nelle olive da tavola (mg/100 g)

	idrossitirosolo	Derivati dell'idrossitirosolo
Primo Quintile	49,9	47,4
Mediana	84,3	101,1
Quarto Quintile	123,3	228,7

Tabella 4. Parametri sensoriali delle olive da tavola AQ.

PARAMETRI SENSORIALI	OLIVE DA TAVOLA AQ	METODICA
fermentazione anomala e/o altri difetti	assenza	COI/OT/MO No 1/Rev. 1
durezza	3<mediana ≤6	COI/OT/MO No 1/Rev. 1
amaro	3<mediana ≤6	COI/OT/MO No 1/Rev. 1

2. SEZIONE AGRONOMICA

La presente sezione trae spunto dalle indicazioni riportate nella sezione agronomica del disciplinare redatto dall'Unaprol per la produzione di olio extra-vergine di alta qualità e mette in evidenza le differenze nella gestione della filiera delle olive per il consumo da tavola.

2.1 Vocazionalità pedoclimatica

La scelta di suoli e climi idonei per la coltivazione dell'olivo è di fondamentale importanza per valorizzare le caratteristiche della varietà, ridurre la necessità di trattamenti contro parassiti e malattie, e consentire fruttificazione abbondante e condizioni ottimali per la maturazione dei frutti. Suoli idonei per l'olivo sono di medio impasto e profondi almeno 0.8 m. Terreni argillosi o con strati argillosi possono creare condizioni di asfissia radicale a cui l'olivo è molto sensibile. Analogamente sono da evitare suoli con falda freatica superficiale.

Per quanto riguarda le condizioni climatiche evitare le aree ove si verifichino temperature minime invernali inferiori a -12 °C. Sono, inoltre, da evitare aree soggette a gelate tardive, che compromettono la fioritura. La resistenza al freddo di alcune varietà e la loro capacità di sfuggire a gelate tardive o precoci mediante ritardi nella fioritura o anticipo di maturazione consente di ovviare solo parzialmente ai suddetti vincoli di minime termiche, per cui la scelta varietale può consentire miglioramenti limitati. Il regime pluviometrico è molto importante ai fini della disponibilità idrica nel suolo ma di norma le precipitazioni naturali non sono sufficienti per raggiungere gli obiettivi qualitativi per la produzione di olive da tavola e vanno integrate con l'apporto di volumi irrigui. Elevata umidità atmosferica e nebbie sono condizioni sfavorevoli per la coltivazione dell'olivo anche a causa della necessità di frequenti trattamenti per il controllo delle malattie e dei parassiti.

COSA FARE	Frequenza	Documentabilità	Responsabile	Gestione N. C.	RACC.	CERT.
Prestare attenzione ai terreni argillosi o con strati argillosi in cui si possono creare condizioni di asfissia radicale a cui l'olivo è molto sensibile. Evitare terreni con franco di coltivazione inferiore a 0,5 m o terreni sabbiosi nei casi in cui non sia possibile l'irrigazione.					✓	
Evitare le aree ove si verifichino temperature minime invernali inferiori a -12 °C. Evitare inoltre aree soggette a gelate tardive, che compromettono la fioritura, o precoci in autunno che danneggiano le olive.					✓	
Elevata umidità atmosferica e nebbie sono condizioni sfavorevoli per la coltivazione dell'olivo a causa della necessità di frequenti trattamenti per il controllo					✓	

2.2 Scelta varietale

La scelta varietale è fondamentale per le caratteristiche qualitative delle olive da tavola. Caratteri qualitativi dei frutti sono la pezzatura, l'elevato rapporto polpa/nocciolo, la consistenza della polpa, il colore e la tessitura. Il consumo diretto del frutto impone l'assenza di danni estetici, anche piccoli o superficiali, causati da malattie, parassiti, fisiopatie o traumi. Il contenuto in olio non deve essere elevato, mentre quello in zuccheri deve essere alto per le olive destinate a processi di concia mediante fermentazione. Dato che la gran parte delle varietà di olivo sono auto-incompatibili ai fini riproduttivi, è opportuno prevedere la presenza di almeno due varietà compatibili tra loro nei nuovi oliveti.

Per la realizzazione di nuovi impianti olivicoli e per i reinnesti è obbligatorio l'impiego di materiale di propagazione di categoria c.a.c o, eventualmente, categoria "certificato".

COSA FARE	Frequenza	Documentabilità	Responsabile	Gestione N. C.	RACC.	CERT.
Utilizzare per i nuovi impianti esclusivamente varietà autoctone o derivate da incrocio di varietà autoctone.	Per ogni varietà presente nell'oliveto	Visiva	Produttore/Responsabile legale	Esclusione partite di olive non autoctone o esclusione dalla certificazione	✓	
La scelta varietale è fondamentale per le caratteristiche qualitative delle olive da tavola e deve essere coerente con la vocazionalità pedoclimatica.					✓	
Nei nuovi oliveti è opportuno prevedere la presenza di almeno due varietà tra loro compatibili dal punto di vista riproduttivo.					✓	



2.3 Sostenibilità dell'agrosistema naturale

La sostenibilità del sistema produttivo e dei territori olivicoli non ha effetti diretti sulla qualità, ma è un requisito fondamentale per garantire la sicurezza del prodotto e il rispetto dell'ambiente e della bio-diversità. L'olivicoltura da tavola è diffusa anche in aree fragili dal punto di vista degli equilibri naturali, ma di notevole valore ambientale e paesaggistico e a rischio di abbandono. Le raccomandazioni non si differenziano da quelle presenti nel disciplinare per la produzione di olive da olio.

COSA FARE	Frequenza	Documentabilità	Responsabile	Gestione N. C.	RACC.	CERT.
La sostenibilità del sistema produttivo e del territorio in cui è presente l'olivicoltura non ha effetti diretti sulla qualità, ma è un requisito fondamentale per garantire la sicurezza del prodotto e il rispetto dell'ambiente e della bio-diversità.					✓	
Mantenimento di siepi per la biodiversità.					✓	
Mantenimento e/o ripristino di cigli, di muretti a secco, di inerbimenti.					✓	

2.4 Sistemazione, preparazione e impianto

Sistemazioni del terreno e caratteristiche dell'oliveto devono seguire i criteri indicati per la valutazione di idoneità pedo-climatica. Le sistemazioni devono evitare ristagni idrici e consentire, tramite fosse e scoline, lo sgrondo controllato delle acque. In terreni declivi la rete di sgrondo delle acque deve ridurre al minimo i rischi da erosione superficiale. Assicurare all'impianto l'apporto di abbondante sostanza organica con effetto di lento rilascio di elementi nutritivi e miglioramento delle proprietà fisiche del suolo e della sua capacità di ritenzione idrica. L'assortimento varietale dovrà tener conto della resistenza genotipica a fattori di rischio nonché delle esigenze di compatibilità riproduttiva per assicurare elevata produttività e il perseguimento degli obiettivi qualitativi delle olive da tavola. Non si conoscono effetti diretti di sistemazioni e impianto sulla qualità delle olive, ma adeguate preparazione del suolo e messa a dimora delle piante si traducono in buoni risultati produttivi, resistenza a fattori di rischio biotici ed ambientali e sostenibilità dell'oliveto.

Ai fini del mantenimento della fertilità e delle proprietà pedologiche del terreno, bisogna evitare movimenti terra, livellamenti o lavorazioni che interessino strati di profondità superiore a 30 cm.

COSA FARE	Frequenza	Documentabilità	Responsabile	Gestione N. C.	RACC.	CERT.
Evitare livellamenti o movimenti terra di spessore superiore a 25 - 30 cm.	Per ogni appezzamento olivetato.	visiva	Produttore/responsabile legale		✓	
Privilegiare la concimazione di fondo con concimi organici.					✓	
Evitare lavorazioni a rittochino con pendenze superiori a 15%.					✓	

2.5 Sesti d'impianto

Il sesto d'impianto (distanza tra gli alberi sulle file e tra le file) non ha ripercussioni sulla qualità dei frutti purché siano rispettate le buone condizioni di intercettazione e penetrazione della luce nella chioma e di circolazione di aria nell'oliveto (vedi §§ 2.1 e 2.8). Ad ogni modo è bene evitare sesti inferiori a 4 m sulla fila e 5 m tra le file per consentire buona illuminazione delle chiome e circolazione d'aria.

L'esclusione di oliveti superintensivi (più di 1000 alberi/Ha) è dovuta alla scarsa sostenibilità ambientale di tale sistema produttivo ed alla mancanza di cultivar autoctone per la produzione di olive da tavola che si adattino a tali densità.

COSA FARE	Frequenza	Documentabilità	Responsabile	Gestione N. C.	RACC.	CERT.
Sono esclusi gli oliveti con oltre 1000 piante per ettaro.	Per ogni appezzamento olivetato	visiva	Produttore/Responsabile legale società	Esclusione dell'appezzamento dalla certificazione		✓

2.6 Gestione del terreno

La gestione del suolo agisce solo indirettamente sulla qualità delle olive da tavola attraverso l'eventuale modifica della disponibilità idrica del terreno dovuta alla maggiore traspirazione del prato permanente o temporaneo, alla maggiore quantità di acqua immagazzinata nel suolo nel periodo autunno-invernale nei terreni in pendio per effetto dell'inerbimento, alla minore compattazione degli strati superficiali del suolo per il passaggio delle macchine in terreno lavorato (vedi anche § 2.10). La gestione del suolo ha notevole importanza per la riduzione dell'impatto ambientale dell'oliveto. L'impiego di erbicidi deve essere attentamente valutato per i rischi di contaminazione della falda, nonché per la possibilità di residui nelle olive. La necessità di irrigare l'oliveto per la produzione di olive da tavola consente di favorire l'inerbimento aumentando i volumi idrici per tener conto dei maggiori consumi per la traspirazione del prato. Per il resto valgono le raccomandazioni già riportate per la produzione di olio.

COSA FARE	Frequenza	Documentabilità	Responsabile	Gestione N. C.	RACC.	CERT.
La gestione del suolo ha notevole importanza per la riduzione dell'impatto ambientale dell'oliveto. Si consiglia, ove possibile, l'inerbimento temporaneo o permanente.					✓	
Evitare lavorazioni a rittochino con pendenze superiori a 15%.					✓	

2.7 Controllo delle infestanti

Nel caso di azienda agricola in coltivazione biologica si rimanda a quanto previsto nel Regolamento CE 834/2007 del Consiglio del 28 giugno 2007, relativo alla produzione biologica e all'etichettatura dei prodotti biologici e che abroga il regolamento (CEE) n. 2092/91.

Per tutte le altre aziende il controllo delle infestanti deve avvenire applicando i principi della Difesa integrata. Il contenimento dello sviluppo delle erbe infestanti deve preferibilmente essere ottenuto tramite la razionale applicazione delle pratiche agronomiche. È comunque ammesso il ricorso al diserbo chimico eseguito utilizzando le sostanze attive riportate di seguito. I criteri di scelta devono sempre essere legati al riconoscimento, da parte del responsabile aziendale o del tecnico di riferimento, delle infestanti da controllare, del loro stadio di crescita e del livello di competizione.

INFESTANTI	CRITERI DI INTERVENTO	SOSTANZA ATTIVA	% S. a.	DOSE L/ha ANNO
Graminacee e dicotiledoni	Interventi agronomici: Operare con inerimenti, sfalci, trinciature e/o lavorazioni del terreno			Indipendentemente dal numero delle applicazioni sono annualmente ammessi: l/ha = 7,5 l/ha = 18 ammesso l'uso proporzionale della combinazione delle s.a. ammesse l/ha = 1 Da utilizzarsi a dosi ridotte (0,3 - 0,45 litri per intervento) in miscela con i prodotti sistemici
	Interventi chimici (non ammessi nelle interfile): Interventi localizzati sulle file, operando con microdosi su infestanti nei primi stadi di sviluppo. Ripetere le applicazioni in base alle necessità. Consigliabili le applicazioni nel periodo autunnale.	Glifosate	30,4	
	L'uso di diserbanti può essere opportuno quando: • vi siano rischi di erosione (es. pendenze superiori al 5%) • vi siano impianti con impalcature basse e di dimensioni tali da limitare la possibilità di intervenire con organi meccanici.	Glufosinate ammonio Oxifluorfen	11,33 22,9	

Es.: In un ettaro di oliveto si possono complessivamente utilizzare in un anno 3,75 litri di glifosate, o 9 litri di glufosinate ammonio

Il diserbo deve essere localizzato sulla fila con una fascia di ampiezza non superiore a 1,6 m. L'area trattata non deve quindi superare il 50% dell'intera superficie. Sulle file è possibile operare, preferibilmente nei periodi autunnali, con microdosi sulle infestanti nei primi stadi di sviluppo e ripetere l'applicazione in base alle necessità. L'uso di diserbanti può essere opportuno in presenza di rischio di erosione e in impianti con impalcature basse e di dimensioni tali da limitare la possibilità di intervento con organi meccanici.

In condizioni predisponenti, inoltre, va valutato il rischio che l'inerbimento possa favorire la proliferazione di arvicole nell'oliveto a causa della non lavorazione del terreno che lascia indisturbate le gallerie sotterranee dei roditori. In tali casi si consiglia di disfare il prato con lavorazioni meccaniche ogni 3 anni.

È necessario conservare la documentazione fiscale di acquisto dei diserbanti ed i relativi registri di carico e scarico di magazzino nonché registrare i trattamenti diserbanti nel Quaderno di campagna.



COSA FARE	Frequenza	Documentabilità	Responsabile	Gestione N. C.	RACC.	CERT.
Per alberi isolati o oliveti in sestri irregolari, il diserbo chimico è ammesso entro un raggio di 1,5 metri dal fusto della pianta.	Per ogni albero isolato e oliveti in sestri irregolari	Quaderno di campagna	Produttore/responsabile legale	Esclusione partite di olive o esclusioni dalla certificazione		✓
Non sono ammessi interventi chimici nelle interfile.	Per ogni appezzamento	Quaderno di campagna	Produttore/responsabile legale	Esclusione partite di olive o esclusioni dalla certificazione		✓
In terreni in pendenza o a rischio di erosione è fortemente consigliato l'inerbimento.	Per ogni terreno in pendenza o a rischio di erosione	Visiva	Produttore/responsabile legale	Esclusione partite di olive o esclusioni dalla certificazione	✓	Cert. dal 2013
Adottare misure agronomiche di controllo delle infestanti per ridurre gli interventi chimici. Tecniche di inerbimento possono migliorare la struttura del suolo e ridurre le perdite d'acqua.					✓	
Tenere il registro dei trattamenti (quaderno di campagna)	Per ogni registro	quaderno di campagna	Produttore/responsabile legale	Esclusione certificazione		✓
Programmare l'eventuale intervento chimico previa riconoscimento della composizione floristica delle infestanti e valutazione del loro grado di competizione.					✓	

2.8 Gestione dell'albero e della fruttificazione

La tecnica di potatura e la forma di allevamento devono essere idonee per la produzione di frutti di elevata qualità. Ai fini sia di una ridotta incidenza di parassiti, malattie e stress ambientali che della massima produttività dell'albero, è opportuno che le diverse parti della chioma abbiano buona esposizione alla luce ed adeguata circolazione di aria. Frutti sviluppatasi in parti della chioma esaurite od ombreggiate sono di piccole dimensioni e con ritardi di maturazione. Forme di allevamento a vaso, incluso quelle libere ottenute utilizzando i criteri della potatura minima, sono di solito le più idonee per la uniforme distribuzione della luce nelle diverse parti della chioma, il controllo dell'equilibrio vegeto-riproduttivo e del microclima. Interventi di potatura verde sono spesso necessari per diminuire il carico produttivo e la competizione tra i frutti, e per ridurre l'ombreggiamento e la competizione tra organi vegetativi e riproduttivi. L'intervento di potatura verde, eseguito entro le prime 5 settimane dall'allegagione svolge anche funzioni di diradamento dei frutticini per stimolare la crescita di quelli rimanenti e ottenere elevate pezzature e rapporto polpa-nocciolo.

COSA FARE	Frequenza	Documentabilità	Responsabile	Gestione N. C.	RACC.	CERT.
Assicurare una buona illuminazione e arieggiamento delle chiome ai fini di una corretta maturazione delle olive e difesa da malattie e parassiti.					✓	

2.9 Concimazione

La concimazione ha una fondamentale importanza per la crescita, produttività e redditività dell'oliveto, e sulla qualità del frutto. Eccessiva distribuzione di concimi minerali comporta un elevato impatto ambientale con dilavamento di nutrienti e spostamento degli equilibri microbici e chimici nel suolo. La presenza di sostanza organica migliora la capacità di ritenzione idrica del terreno oltre a migliorare la fertilità del suolo.

Si prevede di eseguire l'analisi fisico-chimica del terreno almeno una volta ogni 5 anni, per appezzamenti omogenei, in modo da poter valutare la reale dotazione e disponibilità di elementi nutritivi e della sostanza organica.

Nel caso di azienda agricola in coltivazione biologica si rimanda a quanto previsto nel Regolamento CE 834/2007 del Consiglio, del 28 giugno 2007 relativo alla produzione biologica e all'etichettatura dei prodotti biologici e che abroga il regolamento (CEE) n. 2092/91.

Per tutte le altre aziende si rimanda alle norme tecniche ed ai criteri rappresentati nella tabella seguente, con i seguenti limiti di dosi massime ammesse di macroelementi: N (azoto) 100 Kg/ha; P₂O₅ (Fosforo) 60 Kg/ha; K₂O (Potassio) 60 Kg/ha, siano essi soddisfatti con l'apporto di soli concimi organici e/o misto-organici o di sintesi.

COSA FARE	Frequenza	Documentabilità	Responsabile	Gestione N. C.	RACC.	CERT.
Privilegiare la fertilizzazione con concimi organici.					✓	
Evitare le concimazioni azotate nel periodo autunno/inverno.					✓	
Distribuire i concimi azotati frazionati in almeno due interventi durante la stagione di crescita.					✓	
Somministrare microelementi solo in casi di carenze accertate mediante analisi del suolo e delle foglie.	Per ogni azienda	Quaderno di campagna e certificati di analisi	Produttore/responsabile legale società	Esclusione partite di olive o esclusione dalla certificazione	✓	Cert. dal 2013
Eseguire l'analisi fisico-chimica del terreno almeno una volta ogni 5 anni.	Per ogni azienda	Certificati di analisi	Produttore/responsabile legale società	Esclusione partite di olive o esclusione dalla certificazione	✓	Cert. dal 2013

2.10 Irrigazione

L'irrigazione è una pratica indispensabile per la produzione di olive da tavola nella gran parte delle situazioni colturali. La disponibilità idrica nel suolo agisce direttamente su alcuni parametri qualitativi delle olive importanti per la produzione da tavola, tra cui le dimensioni, il rapporto polpa-nocciolo e la consistenza dei frutti, e ne rende più graduale la maturazione. Per ragioni di risparmio idrico ed energetico, di ottimizzazione della qualità dei frutti, l'irrigazione in deficit controllato può essere attuata per le varietà ove vi sia una sufficiente sperimentazione.

2.11 Controllo fitosanitario della coltura

Nel caso di azienda agricola in coltivazione biologica si rimanda a quanto previsto nel Regolamento CE 834/2007 del Consiglio, del 28 giugno 2007 relativo alla produzione biologica e all'etichettatura dei prodotti biologici e che abroga il regolamento (CEE) n. 2092/91.

Per tutte le altre aziende agricole la protezione fitosanitaria dell'oliveto deve basarsi sull'applicazione dei principi della "Difesa integrata", secondo le indicazioni delle "Linee guida nazionali per la produzione integrata delle colture: difesa fitosanitaria e controllo delle infestanti" redatte e periodicamente aggiornate dal "Comitato Nazionale Difesa Integrata".

Obiettivo prevalente della difesa integrata è la riduzione dell'impatto della gestione fitosanitaria verso l'uomo e l'ambiente, consentendo di ottenere produzioni economicamente sostenibili.

L'applicazione delle norme tecniche del presente Disciplinare, comunque, deve tener conto delle peculiarità climatico/ambientali, colturali e fitosanitarie che contraddistinguono le diverse zone olivicole italiane. Pertanto, è data facoltà all'azienda che aderisce a questo Disciplinare di adottare le norme tecniche riportate nella tabella successiva o di adottare l'eventuale "Disciplinare di difesa integrata dell'Olivo" della Regione o Provincia autonoma di appartenenza, in quanto ispirate alle stesse "Linee guida nazionali".

La difesa integrata deve essere gestita valorizzando prioritariamente tutte le soluzioni alternative alla difesa chimica che possano consentire di razionalizzare gli interventi, salvaguardando la salute degli operatori e dei consumatori, limitando i rischi per l'ambiente, in un contesto di agricoltura sostenibile.

Particolare importanza va riposta, nel rispetto della normativa vigente, nell'attuazione di interventi tesi a:

- adottare sistemi di monitoraggio razionali che consentano di valutare adeguatamente la situazione fitosanitaria dell'oliveto;
- favorire l'azione degli organismi utili (ausiliari);
- attuare la difesa fitosanitaria attraverso metodi biologici, biotecnologici, fisici, agronomici in alternativa alla lotta chimica;
- limitare l'esposizione degli operatori ai rischi derivanti dall'uso dei prodotti fitosanitari, anche mediante l'adozione di idonei dispositivi di protezione individuale;
- razionalizzare la distribuzione dei prodotti fitosanitari limitandone la quantità, lo spreco e le perdite per deriva (controllo funzionale e taratura delle macchine irroratrici);
- limitare gli inquinamenti puntiformi derivanti da una non corretta preparazione delle soluzioni da distribuire e dal non corretto smaltimento delle stesse;



- conservare i prodotti fitosanitari in locali adeguati;
- smaltire adeguatamente i contenitori dei prodotti fitosanitari.
- Per ogni singola problematica fitosanitaria, il momento ottimale di intervento è valutato in relazione:
- all'andamento delle infezioni e/o infestazioni;
- allo stadio di sviluppo della specie dannosa e del suo grado di pericolosità;
- alla presenza contemporanea di più specie dannose;
- alle caratteristiche delle sostanze attive, alla loro efficacia e meccanismo di azione, in relazione ai diversi stadi di sviluppo dei patogeni e/o fitofagi;
- all'andamento meteorologico e alle previsioni del tempo.

La scelta delle sostanze attive da impiegare va fatta in base a:

- l'efficacia nei confronti dell'avversità da controllare;
- la selettività nei confronti degli organismi utili;
- i tempi di carenza in funzione dell'epoca di raccolta.

L'impiego di metodi di monitoraggio è obbligatorio tutte le volte che sia ritenuto necessario per giustificare l'esecuzione di un trattamento, come riportato in tabella "Norme tecniche per la difesa integrata dell'olivo".

È importante conservare la documentazione fiscale di acquisto dei prodotti fitosanitari ed i relativi registri di carico e scarico di magazzino e compilare il Quaderno di campagna.

AVVERSITÀ'	CRITERI D'INTERVENTO	SOSTANZE ATTIVE e AUSILIARI	NOTE E LIMITAZIONI D'USO
CRITTOGAME			
Occhio di pavone o Cicloconio (<i>Spilocaea oleagina</i>)	<p>Interventi agronomici</p> <ul style="list-style-type: none"> • impiegare varietà poco suscettibili • adottare sesti d'impianto non troppo fitti; • favorire l'arieggiamento e l'insolazione anche nelle parti interne della chioma; • effettuare concimazioni equilibrate. <p>Interventi chimici</p> <p>Nelle zone e per le cultivar suscettibili alle infezioni:</p> <ul style="list-style-type: none"> • effettuare un trattamento prima del risveglio vegetativo; • effettuare un secondo trattamento alla formazione del 3-4 nodo fogliare (circa a metà dello sviluppo vegetativo). • eseguire la "diagnosi precoce" in luglio e agosto per verificare la presenza di nuove infezioni non ancora evidenti. In caso di esito positivo attendere la comparsa delle macchie sulle foglie (settembre) ed effettuare un terzo trattamento. • procedere successivamente come nel caso precedente 	Prodotti rameici Dodina (1)	(1) al massimo un intervento all'anno.
Cercosporiosi o Piombatura (<i>Mycocentrospora cladosporioides</i>)	<p>Interventi agronomici</p> <p>Mantenere un buono stato vegetativo delle piante e una buona aerazione della chioma. Evitare apporti di acqua superiori a quanto richiesto dalla coltura</p> <p>Interventi chimici</p> <p>Gli interventi vanno effettuati partendo dall'inizio delle infezioni (estate - autunno)</p>	Prodotti rameici	Gli interventi effettuati contro l'Occhio di pavone sono anche in grado di controllare questa malattia
Fumaggine	<p>Interventi agronomici</p> <p>È necessario effettuare una buona aerazione della chioma</p> <p>Interventi chimici</p> <p>Non vanno effettuati interventi chimici diretti contro tale avversità ma essendo la stessa una conseguenza della produzione di melata emessa dalla <i>Saissetia oleae</i>, il controllo va indirizzato verso questo insetto.</p>		
Lebbra (<i>Colletotrichum gloeosporioides</i>)	<p>Interventi agronomici</p> <p>Effettuare operazioni di rimonda e di arieggiamento della chioma. Completa raccolta delle drupe. Anticipare la raccolta</p> <p>Interventi chimici</p> <p>Gli interventi vanno effettuati nei periodi nella fase d'invasione se le condizioni climatiche sono favorevoli (elevata umidità).</p>	Prodotti rameici	Risultano validi i trattamenti effettuati contro l'Occhio di pavone.
Verticilliosi (<i>Verticillium dahliae</i>)	<p>Interventi agronomici</p> <p>Asportare e bruciare dei rami disseccati al di sotto di 20-30 cm del punto di infezione. Evitare consociazioni con solanacee. Ridurre i volumi irrigui</p>		
Carie	<p>Interventi agronomici</p> <p>Effettuare interventi meccanici di asportazione delle parti infette e disinfettare con prodotti rameici o con il fuoco o applicando mastici cicatrizzanti. Proteggere i grossi tagli effettuati con la potatura con mastici cicatrizzanti.</p>		
BATTERIOSI			
Rogna (<i>Pseudomonas syringae pv. savastanoi</i>)	<p>Interventi agronomici</p> <p>Eliminare e distruggere i rami colpiti. Eseguire la potatura in periodi asciutti, limitando i grossi tagli ed eliminando i rami infetti. Evitare dove è possibile la formazione di microferite nel periodo autunnale specialmente durante le operazioni di raccolta.</p> <p>Interventi chimici</p> <p>Intervenire chimicamente esclusivamente in presenza di forte inoculo sulle piante, soprattutto al verificarsi di gelate o grandinate o in post-raccolta.</p>	Prodotti rameici	Risultano validi i trattamenti effettuati contro l'Occhio di pavone e la Cercosporiosi.
FITOFAGI			

Figliola dell'olivo <i>Prays oleae</i>)	Soglia di intervento (<i>solo per la generazione carpofaga</i>) 10 - 15% di uova e/o di larvette in fase di penetrazione nelle olive. Interventi chimici: <i>solo per la generazione carpofaga</i> Intervenire quasi alla fine della curva di volo determinata con le trappole innescate con feromone e comunque prima dell'indurimento del nocciolo, al superamento della soglia di intervento.	<i>Bacillus thuringiensis</i> Dimetoato (2) Fosmet (1)	Gli interventi chimici sono giustificati solo per le varietà a drupa grossa e per la sola generazione carpofaga per un massimo di 1 intervento. (1) Al massimo 1 intervento all'anno indipendentemente dall'avversità. (2) Al massimo 2 interventi all'anno indipendentemente dall'avversità
Mosca delle olive <i>Bactrocera oleae</i>)	Soglia di intervento in funzione delle varietà 10-15% di infestazione attiva (sommatoria di uova e larve) Interventi chimici - adulticidi con sistemi preventivi utilizzando esche proteiche avvelenate o applicando il metodo "Attract and Kill"; - larvicidi al superamento della soglia intervenire, nelle prime fasi di sviluppo della mosca (3)	<i>Opius concolor</i> (1) Dispositivi "Attract and Kill" Esche proteiche avvelenate con Dimetoato (2) Dimetoato (3) Fosmet (4)	(1) I lanci di questo parassitoide vanno programmati con i centri di assistenza tecnica regionali o zonali. (2) Si consiglia di adottare tale controllo preventivo con la stretta collaborazione dei tecnici Sono autorizzati al massimo 5 interventi per la difesa preventiva (con le esche proteiche) (3) Sono autorizzati al massimo 2 interventi per la difesa curativa (controllo delle larve) (4) Al massimo 1 intervento/anno
Oziorinco <i>Otiorynchus viridicollis</i>)	Interventi agronomici - Su piante adulte lasciare alla base del tronco i polloni e sul tronco e sulle branche i succhioni, sui quali si soffermano gli adulti. - Collocare intorno al tronco delle piante giovani delle fasce di resinato acrilico (lana artificiale) per impedire la salita degli adulti nel periodo di massima attività dell'insetto (maggio - giugno e settembre - ottobre)		Non sono autorizzati interventi chimici
Mezzogiarraffa <i>Saissetia oleae</i>)	Soglia di intervento 5 - 10 neanidi vive per foglia (nel periodo estivo) Interventi agronomici Potatura con asportazione delle parti più infestate e bruciatura delle stesse; Limitare le concimazioni azotate; Favorire l'insolazione all'interno della chioma con la potatura. Interventi chimici Vanno effettuati al superamento della soglia e nel momento di massima schiusura delle uova e fuoriuscita delle neanidi (orientativamente da luglio a agosto) da determinare mediante monitoraggio.	Olio minerale Buprofezin (1)	(1) al massimo un intervento
Leccinella <i>Phloeotribus scarabeoides</i>)	Interventi agronomici Eliminare i rami e le branche deperiti e infestati mantenendo l'oliveto in buono stato vegetativo		
Lesina <i>Hylesinus oleiperda</i>)	Subito dopo la potatura lasciare nell'oliveto "rami esca" da asportare e bruciare dopo l'ovodeposizione, prima dello sfarfallamento degli adulti (quando si notano le tipiche rosure degli Insetti).		
Margarita <i>Palpita unionalis</i>)	Interventi chimici Intervenire alla presenza dei primi stadi larvali sugli impianti giovani e solo a seguito di accertato consistente attacco sulle piante adulte.	<i>Bacillus thuringiensis</i>	
Botanella dell'olivo <i>Euphyllura olivina</i>)	Interventi agronomici Determinare un maggiore arieggiamento della chioma e una minore condizione di umidità sotto la chioma.		
Bole di legno giallo <i>Zeuzera pyrina</i>)	Interventi agronomici - Durante la potatura eliminare le parti infestate e individuare le larve nell'interno dei rami. - In primavera, seguendo lo sfarfallamento a mezzo delle trappole a feromone, controllare sui rami la formazione delle gallerie. - In caso di galleria appena iniziata, uncinare le larve con un fil di ferro o un filo di freno per bicicletta. - Cercare di non far sviluppare molto le larve in quanto risulta difficile raggiungerle per la sinuosità delle gallerie. Interventi biotecnici - Utilizzare trappole a feromoni per la cattura massale, posizionando mediamente 10 trappole/ha - Impiego del metodo della confusione sessuale utilizzando 300-400 diffusori/ha	Catture massali con trappole a feromoni Confusione sessuale	

Note esplicative alla tabella

È ammesso l'uso delle sole sostanze attive indicate nella colonna "Mezzi di difesa". La singola sostanza attiva potrà essere utilizzata da sola o in varie combinazioni con altre sostanze attive presenti nella stessa colonna nelle diverse formulazioni disponibili sul mercato senza limitazioni se non per quanto specificamente indicato.

Nella colonna "Mezzi di difesa", i numeri riportati a fianco di alcune sostanze attive (s.a.), indicano il corrispondente numero della nota, riportata nella colonna "Note e Limitazioni d'uso", da riferirsi a quella specifica sostanza.

Quando lo stesso numero è riportato a fianco di più s.a., la limitazione d'uso si riferisce al numero complessivo di trattamenti realizzabili con tutti i prodotti indicati. Il loro impiego deve quindi considerarsi alternativo.

Le limitazioni d'uso delle singole s.a. sono riportate nella colonna "Limitazioni d'uso e Note" e sono evidenziate in grassetto su sfondo ombreggiato.

Le singole sostanze attive sono utilizzabili solo contro le avversità per le quali sono stati indicati nella tabella "Difesa integrata" e non contro qualsiasi avversità. Possono essere impiegati anche prodotti fitosanitari pronti all'impiego o miscele estemporanee contenenti una miscela di sostanze attive purché queste siano indicate per la coltura e per l'avversità.

Le dosi di impiego delle sostanze attive sono quelle previste nell'etichetta dei formulati commerciali. Ove tecnicamente possibile si utilizzeranno preferibilmente le dosi minori.



È inoltre necessario registrare i dati dei monitoraggi fitosanitari sulle relative schede aziendali di monitoraggio.

COSA FARE	Frequenza	Documentabilità	Responsabile	Gestione N. C.	RACC.	CERT.
Rispettare la normativa in materia di uso dei prodotti fitosanitari.	Per ogni azienda	Conoscenza normativa	Produttore/Responsabile legale società	Esclusione dalla certificazione		✓
Tenere il Registro dei trattamenti.	Per ogni azienda	Registro trattamenti	Produttore/Responsabile legale società	Esclusione dalla certificazione		✓
Adottare sistemi di monitoraggio per le avversità riportate in tabella (Norme tecniche per la difesa integrata dell'olivo) per le quali sono previste soglie di intervento.	Per ogni azienda	Schede di monitoraggio aziendali	Produttore/Responsabile legale società	Esclusione dalla certificazione		✓
Adottare preferibilmente, per la difesa della coltura, metodi biologici, biotecnologici, fisici, agronomici in alternativa alla lotta chimica, che tengano conto di un approccio "olistico" alla gestione dell'oliveto.					✓	

2.12 Distribuzione degli agrofarmaci in campo

L'azienda agricola deve mantenere le attrezzature di distribuzione dei prodotti fitosanitari (atomizzatori, barre da diserbo, ecc.) in uno stato di funzionamento efficiente e sottoporle a manutenzione almeno annuale. Le attrezzature devono essere sempre in corretto stato di efficienza e devono essere sottoposte a controllo funzionale almeno ogni 5 anni da una struttura terza, riconosciuta dalle competenti autorità Regionali e/o Provinciali. È consigliabile eseguire, contestualmente al controllo funzionale, la taratura dell'irroratrice in funzione della forma di allevamento dell'oliveto e della trattatrice utilizzata.

Si raccomanda l'utilizzo di attrezzature che riducano la dispersione del preparato fitosanitario nell'ambiente come, ad esempio, gli ugelli antideriva e quelli antigoccia. L'attrezzatura deve essere accuratamente bonificata in ogni sua parte ogniqualvolta ci sia il rischio di possibili contaminazioni con sostanze attive non ammesse dal disciplinare per la protezione dell'oliveto.

Non è permesso il ricorso a mezzi aerei.

Indicativamente, in funzione delle attrezzature utilizzate e della forma di allevamento/età delle piante di olivo, sono consentiti per i soli trattamenti di difesa dalle avversità, volumi di bagnatura compresi tra 3 hl/ha/intervento di acqua e 20 hl/ha/intervento di acqua. Per i trattamenti di controllo chimico delle malerbe si rimanda ai volumi di bagnatura riportati nel 2.7 del presente disciplinare.

Lo smaltimento delle confezioni degli agrofarmaci utilizzati e/o quelle scadute o inutilizzabili deve avvenire secondo quanto previsto dalla normativa vigente in merito allo smaltimento di "rifiuti pericolosi" attraverso la consegna a centri specializzati.

Il lavaggio delle confezioni di agrofarmaco deve avvenire contestualmente alla preparazione della miscela di trattamento e le acque di lavaggio delle confezioni vanno smaltite attraverso il trattamento stesso.

Il lavaggio delle apparecchiature meccaniche deve avvenire in circostanze tali da scongiurare la possibilità di contaminazioni puntiformi di sostanze attive nell'ambiente. Le acque che provengono dal lavaggio di tali apparecchiature, qualora non ridistribuite sulle coltivazioni, devono essere raccolte in contenitori a tenuta stagna e conferite presso centri di raccolta specializzati.

La documentazione e le registrazioni devono comprendere:

- certificato o attestato di controllo funzionale e/o taratura rilasciato da struttura abilitata e riconosciuta;
- patentino per la manipolazione di prodotti fitosanitari classificati come Xn, T o T+;
- certificazione MUD per il corretto smaltimento delle confezioni dei prodotti fitosanitari e delle eventuali acque di lavaggio.

COSA FARE	Frequenza	Documentabilità	Responsabile	Gestione N. C.	RACC.	CERT.
Eseguire il controllo funzionale delle irroratrici almeno una volta ogni 5 anni per garantire un'efficiente distribuzione dei prodotti fitosanitari.	Per ogni irroratrice presente in azienda	Certificato/attestato	Produttore/ responsabile legale	Utilizzare irroratrici idonee o esclusione dalla certificazione		✓
Eseguire con regolarità, in funzione alla frequenza d'uso della macchina, la manutenzione delle irroratrici per migliorare l'efficacia dei trattamenti.						✓
Tarare l'irroratrice per ottimizzare la regolazione dei parametri di esercizio e ottenere una distribuzione ottimale del prodotto fitosanitario.						✓
Rispettare la normativa in materia di uso dei prodotti fitosanitari; chi utilizza agrofarmaci classificati come Xn o T deve possedere apposito "patentino".	Per ogni azienda	Patentino	Produttore/responsabile legale	Esclusione dalla certificazione		✓
Custodire i prodotti fitosanitari in appositi locali.	Per ogni azienda	Visione diretta	Produttore/responsabile legale	Esclusione dalla certificazione		✓
Le confezioni o i liquidi contaminati da prodotti fitosanitari pericolosi devono essere smaltiti correttamente.	Per ogni azienda	Certificato (MUD)	Produttore/responsabile legale	Smaltimento idoneo o esclusione dalla certificazione		✓

2.13 Raccolta

La raccolta delle olive è un'operazione particolarmente delicata che può compromettere la qualità del prodotto finale.

L'epoca di raccolta varia in relazione all'ambiente di coltivazione e alla cultivar. Per le olive da tavola è di solito dettata dal tipo di trattamento utilizzato per la successiva concia.

Ai fini della qualità del frutto è necessario che si rispetti l'integrità del frutto a partire dal distacco dalla pianta. Traumi e lesioni anche superficiali deprezzano significativamente il prodotto. Il tipo di concia influisce sulle percentuali e il tipo di danno tollerabile del frutto.

La raccolta delle olive si può effettuare manualmente o meccanicamente (modalità di raccolta), ma per il prodotto di qualità si ricorre di solito alla raccolta manuale.

La raccolta manuale delle olive direttamente dalla pianta (brucatura) consente di raccogliere le olive allo stadio di sviluppo idoneo per il tipo di concia. La raccolta meccanica avviene mediante l'uso di agevolatori (pettini, sferzatori, vibrator del ramo) e scuotitori del tronco combinati con reti e ombrelli rovesci che intercettano le olive, ma bisogna porre molta attenzione per evitare deprezzamento dei frutti a causa di lesioni.

Nel caso di azienda agricola in coltivazione biologica si rimanda a quanto previsto nel Regolamento CE 834/2007 del Consiglio, del 28 giugno 2007 relativo alla produzione biologica e all'etichettatura dei prodotti biologici e che abroga il regolamento (CEE) n. 2092/91, con particolare riferimento alla separazione ed identificazione delle olive biologiche da quelle convenzionali.

COSA FARE	Frequenza	Documentabilità	Responsabile	Gestione N. C.	RACC.	CERT.
Sono escluse le olive raccolte per cascata naturale e la raccattatura delle olive da terra,	Per ogni oliveto	Visiva	Produttore/responsabile legale	Esclusione dalla certificazione		✓ (previo accertamento tecnico)
L'epoca di raccolta varia in relazione alla cultivar e al metodo di concia.					✓	
Rispettare l'integrità del frutto a partire dal distacco dalla pianta.					✓	

2.14 Conservazione post-raccolta e consegna delle olive

Le olive, per conservare le caratteristiche qualitative che hanno al momento della raccolta, devono essere immediatamente consegnate all'impianto di trasformazione. Se per qualsiasi ragione non fosse possibile consegnarle e si rendesse necessaria la loro conservazione, è obbligatorio:

- non superare le 24 ore tra raccolta e trattamento;
- conservare le olive in cassette o bins di plastica rigidi e aerati, approvati per il contatto con gli alimenti, disponendo le olive in strato sottile (max 25/30 cm);
- riporre le cassette o i bins in locali freschi e aerati e comunque coperti.

In fase di post-raccolta e consegna delle olive all'impianto di trasformazione, l'operatore agricolo deve assicurare la rintracciabilità del prodotto, allegando sempre alla movimentazione ed alla consegna del prodotto all'impianto di trasformazione il "Modello di conferimento". In ogni situazione (stazionamento e/o movimentazione) il prodotto conforme al DTP deve sempre essere



chiaramente identificabile.

COSA FARE	Frequenza	Documentabilità	Responsabile	Gestione N. C.	RACC.	CERT.
Non superare 24 ore dalla raccolta alla molitura.	Per ogni partita di olive	Modello di conferimento	Produttore/responsabile legale	Esclusione dalla certificazione		✓
Conservare le olive in cassette o bins di plastica rigidi e aerati, approvati per il contatto con gli alimenti, disponendo le olive in strato sottile (max 25/30 cm).	Per ogni partita di olive	Visiva	Produttore/responsabile legale	Esclusione dalla certificazione		✓
Riporre le cassette o i bins in locali freschi e aerati e comunque coperti	Per ogni partita di olive	Visiva	Produttore/responsabile legale	Esclusione dalla certificazione		✓

2.15 Gestione dei quantitativi

La quantità delle olive lavorate deve essere registrata secondo le modalità previste dal sistema di rintracciabilità volontaria certificato ai sensi della ISO 22005:08 e deve essere coerente con la capacità produttiva.

COSA FARE	Frequenza	Documentabilità	Responsabile	Gestione N. C.	RACC.	CERT.
Quantità di olive coerente con la capacità produttiva	Per ogni partita di olive	Registro di riferimento	Produttore/responsabile legale	Esclusione dalla certificazione		✓

3. SEZIONE TRASFORMAZIONE E CONSERVAZIONE

3.1 Trasporto e stoccaggio delle olive

Il trasporto delle olive dovrebbe essere effettuato in bins forati o in cassette al fine di evitare schiacciamento dei frutti e basso livello di aerazione.

Non è consentito il trasporto in sacchi in quanto provoca il danneggiamento dei frutti e successivi processi fermentativi legati alla formazione di difetti sensoriali.

Se le olive sono stoccate in bins forati, lo stoccaggio non deve superare le 24 ore dalla raccolta, pur considerando che le condizioni ottimali di lavoro comporterebbero la lavorazione giornaliera delle olive raccolte. Periodi relativamente lunghi di stoccaggio, sempre compresi nei periodi indicati possono essere ammessi per olive raccolte ad un grado di maturazione precoce.

Lo stoccaggio dovrebbe essere effettuato in bins forati o in cassette in condizioni di temperatura compresa tra 8 °C e 18 °C

COSA FARE	Frequenza	Documentabilità	Responsabile	Gestione N. C.	RACC.	CERT.
Trasporto in bins forati o cassette.	Per ogni partita di olive	Visiva	Trasformatore/responsabile legale	Esclusione partite o esclusione dalla certificazione	✓	Cert. dal 2013
Trasformare le olive entro 24 ore dalla raccolta.					✓	

3.2 Movimentazione delle olive

La movimentazione delle olive deve essere compiuta utilizzando carrelli elevatori che non producano emissioni di gas di scarico. Questi ultimi non dovrebbero essere usati ed eventualmente il loro utilizzo è consentito solo in luoghi aperti e quindi ben areati. Questo per evitare la sedimentazione sulle olive dei gas di scarico che sono i principali responsabili della contaminazione da idrocarburi policiclici aromatici.

COSA FARE	Frequenza	Documentabilità	Responsabile	GESTIONE N. C.	RACC.	CERT.
Utilizzare carrelli elevatori elettrici se i locali di stoccaggio non sono areati.	Per ogni azienda	Scheda tecnica del carrello elevatore	Trasformatore/responsabile legale	Uso di carrello elevatore idoneo o esclusione dalla certificazione		✓
Locali di stoccaggio lontani da fonti di contaminazione quali carburanti come gasolio, benzina.	Per ogni azienda	Visiva	Trasformatore/responsabile legale	Esclusione dalla certificazione		✓

3.3 Cernita, lavaggio e defogliazione

La fase di pulizia delle olive da corpi estranei e materiali terrosi è un'operazione che viene consigliata. La pulizia può essere effettuata in fase umida o in fase secca, a seconda che si utilizzi come mezzo di rimozione dei corpi estranei, l'acqua o l'aria. La pulizia con l'utilizzo di acqua è sicura-

mente più efficiente della pulizia in fase secca soprattutto per eliminare materiali adesi alle superfici delle olive.

Le operazioni di cernita e corrispondente eliminazione dei corpi estranei possono essere anche effettuata mediante ispezione visiva e separazione manuale dei materiali impropri, quando questi presentano opportune dimensioni.

Il lavaggio e la defogliatura delle olive vengono consigliate. Il controllo del processo è relativo alla qualità dell'acqua utilizzata nella fase di lavaggio. In particolare, nelle lavatrici tradizionali si deve provvedere ad un ricambio periodico dell'acqua di lavaggio che sarà in funzione della capacità lavorativa dell'impianto e del livello di contaminazione da corpi estranei e materiali terrosi dell'oliva. È consigliabile prevedere, a fine processo di lavaggio, un risciacquo delle olive con acqua potabile, al fine di ridurre al minimo la contaminazione da materiali terrosi. La quantità di acqua da utilizzare in questa fase non dovrebbe essere inferiore ai 15 litri per 100 Kg di olive.

COSA FARE	Frequenza	Documentabilità	Responsabile	GESTIONE N. C.	RACC.	CERT.
Utilizzare acqua potabile.	Per ogni partita	Certificato potabilità delle acque	Trasformatore/ responsabile legale	Uso di acqua potabile o esclusione dalla certificazione.		✓
Ricambio d'acqua come da specifiche tecniche della lavatrice.					✓	
Nella fase di risciacquo non meno di 10 litri di acqua/quintale di olive.					✓	

3.4 Calibratura

La calibratura è un'operazione tecnologica fondamentale per l'ottenimento di un prodotto con caratteristiche di uniformità produttiva. La calibratura oltre che per l'accettabilità da parte del consumatore ha una sua importanza anche dal punto di vista tecnologico. Infatti i tempi di deamarizzazione biologica sono legati anche al calibro dell'oliva. Per questa operazione possono essere usati vari tipi di calibratrici in relazione alla dimensione degli impianti (calibratrici a filiere mobili parallele o divergenti). I valori del calibro così come il numero complessivo di calibri da selezionare sono legate alla cultivar ed alle condizioni produttive presenti nelle diverse aree geografiche.

COSA FARE	Frequenza	Documentabilità	Responsabile	Gestione N. C.	RACC.	CERT.
Procedere alla calibratura delle olive prima del trattamento di deamarizzazione.	Per ogni partita di olive					✓

3.5 Immissione delle olive in salamoia e fermentazione

Il processo di deamarizzazione biologica prevede l'immissione delle olive in una soluzione composta da acqua potabile e cloruro di sodio (NaCl). Sulla base di risultati di sperimentazioni scientifiche in corso non si esclude la possibilità di sostituire o ridurre, in un futuro prossimo, l'impiego di NaCl mediante la realizzazione di fermentazioni in salamoie contenenti altri sali (es. KCl, CaCl₂, ...). L'uso del cloruro di sodio ha lo scopo di inibire i microrganismi responsabili di alterazioni e favorire lo sviluppo di batteri lattici e lieviti, più resistenti alle elevate concentrazioni saline e all'abbassamento di pH che consegue alle prime fasi di fermentazione. I batteri lattici, in particolare, sono in grado di determinare l'idrolisi dell'oleuropeina e della demetiloleuropeina contenute nel frutto e responsabili della nota di amaro. Per questo processo è assolutamente necessario impiegare sale per uso alimentare. Il contenuto finale di sale nella salamoia di fermentazione dovrebbe oscillare tra il 6% e l'8%, a seconda della cultivar e dello stadio di maturazione del frutto; concentrazioni fino al 10% sono ammesse nel caso di processi tradizionalmente impiegati e validati in alcune aree produttive. Si consiglia di procedere all'aggiunta di sale in due stadi separati, al fine di permettere la diffusione del medesimo all'interno dell'oliva; una volta raggiunto l'equilibrio osmotico con l'oliva si può procedere ad un'ulteriore aggiunta di sale al fine di uniformare il contenuto del medesimo nella salamoia di fermentazione. Sono ammessi anche brevi periodi di immissione delle olive in acqua prima dell'aggiunta di sale quando questo processo risulti legato a sistemi di produzione tradizionali di alcune aree produttive. Va però considerato che tale



processo, quando applicato, dovrebbe essere protratto per periodi molto brevi, al fine di evitare lo sviluppo di microrganismi alteranti, presenti sulla drupa e nell'ambiente di lavorazione come normali contaminanti i quali, in assenza di sale e di un rapido avvio della fase di acidificazione legata alla fermentazione lattica, potrebbero dare luogo all'avvio di fermentazione anomala con possibile comparsa di difetti e problemi di carattere igienico-sanitario. Andrebbero invece evitati eccessi di sale nelle salamoie di fermentazione, che potrebbero comportare un effetto inibente anche sulla crescita dei microrganismi deputati al processo di deamarizzazione biologica.

COSA FARE	Frequenza	Documentabilità	Responsabile	GESTIONE N. C.	RACC.	CERT.
Immissione delle olive in salamoia						✓
Controllo del livello salino delle salamoie	Per ogni partita di olive	Metodi densimetrici o chimici	Trasformatore/ responsabile legale			✓

3.6. Gestione della fermentazione

La fermentazione lattica delle salamoie sviluppata, in una fase iniziale, da batteri lattici appartenenti ai generi Enterococcus, Pediococcus, Leuconostoc e Lactobacillus e, in una fase successiva quasi esclusivamente da specie di lattobacilli (in genere del gruppo Lactobacillus plantarum), è alla base del processo di deamarizzazione biologica. Nei sistemi di fermentazione al naturale riveste un ruolo importante anche la fermentazione alcolica operata da lieviti a metabolismo fermentativo. La fase di fermentazione può avvenire sia in fusti di plastica che in fermentatori in acciaio inox o vetroresina, a seconda delle condizioni produttive aziendali. La fermentazione viene favorita da temperature comprese tra i 20 °C ed i 30 °C (valori ottimali intorno a 25 °C) e, per questo motivo, la gestione della temperatura a partire dalla fase iniziale della fermentazione, e durante il processo, è consigliabile. Può essere gestita mediante condizionamento dei locali, nel caso della fermentazione in fusti oppure mediante appositi sistemi di condizionamento della temperatura (serpentine, fasce o piastre riscaldanti), nel caso di fermentazioni effettuate in fermentatori. La salamoia di fermentazione dovrebbe avere una concentrazione salina compresa tra il 6% e l'8% ed un pH iniziale compreso tra 5,5 e 6. L'evoluzione della fermentazione può essere seguita controllando la modificazione del pH. Le olive alla fine della fermentazione dovrebbero avere un pH compreso tra 4,5 e 3,8, a seconda delle cultivar e delle condizioni di fermentazione. La fase di deamarizzazione può essere seguita valutando la riduzione della nota di amaro dal punto di vista sensoriale o, più opportunamente, controllando la concentrazione dei composti fenolici del frutto (oleuropeina, demetiloleuropeina e verbascoside). La durata della deamarizzazione è molto variabile e può essere legata alla tipologia di olive ed alle condizioni di fermentazione. In questo contesto l'inoculo delle salamoie con ceppi selezionati di lattobacilli viene consigliata come pratica volta alla riduzione dei tempi di deamarizzazione, alla standardizzazione del processo produttivo, ed al miglioramento della qualità sensoriale ed igienico-sanitaria del prodotto finale.

COSA FARE	Frequenza	Documentabilità	Responsabile	Gestione N. C.	RACC.	CERT.
Monitorare il processo di fermentazione	Per ogni partita di olive	Condizioni di pH delle salamoie	Trasformatore/ Responsabile legale	Esclusione dalla certificazione		✓
Utilizzo di ceppi batterici selezionati e del controllo della temperatura di fermentazione	Per ogni partita di olive	Condizioni di pH delle salamoie e della temperatura			✓	

3.7. Stoccaggio delle olive in post deamarizzazione

Le olive dopo la fermentazione dovranno essere stoccate in locali idonei caratterizzati da temperature comprese tra 8°C e 25°C evitando lo stoccaggio all'aperto o sotto tettoie non condizionabili dal punto di vista della temperatura. Sulle olive in fase di stoccaggio deve essere monitorato il livello salino che può essere portato intorno al 6%, 7% al fine di favorire la stabilità microbica. Nel corso dello stoccaggio, oltre al livello salino, va controllato anche il pH delle salamoie in modo periodico.

COSA FARE	Frequenza	Documentabilità	Responsabile	Gestione N. C.	RACC.	CERT.
Temperature dei locali di stoccaggio comprese tra 8°C e 25 °C.	Per ogni partita di olive	Termografi nel locale di stoccaggio	Trasformatore/ Legale Rappresentante			✓
Monitoraggio delle salamoie (contenuto salino, pH)	Per ogni partita di olive	Visiva, scheda tecnica del contenitore	Trasformatore/ Legale Rappresentante	Esclusione dalla certificazione	✓	Cert. dal 2013

3.8. Conformità delle olive di alta qualità Italiana

Le olive da tavola di alta qualità Italiane devono rispettare i parametri analitici e sensoriali previsti. L'esecuzione dei controlli analitici deve avvenire su tutti i lotti di produzione presso laboratori di analisi accreditati; l'analisi sensoriale deve essere eseguita da un panel addestrato e i rapporti di analisi devono essere archiviati per almeno 2 anni.

COSA FARE	Frequenza	Documentabilità	Responsabile	GESTIONE N. C.	RACC.	CERT.
Eseguire il controllo dei parametri previsti	ogni lotto di produzione			esclusione dalla certificazione		✓
Rispetto dei parametri analitici e sensoriali	ogni lotto di produzione	rapporto di analisi		esclusione dalla certificazione		✓
Esecuzione dei controlli sensoriali da parte di un panel addestrato	ogni lotto di produzione					
Archiviazione dei rapporti di analisi per almeno 2 anni	ogni lotto di produzione	archivio		esclusione dalla certificazione		✓

3.9. Gestione dei quantitativi prodotti

La quantità di olive di alta qualità prodotte e/o vendute è coerente con la quantità di olive registrata in entrata e proviene da olive raccolte in aziende agricole aderenti al Disciplinare.

COSA FARE	Frequenza	Documentabilità	Responsabile	GESTIONE N. C.	RACC.	CERT.
Quantità di olive coerente con la quantità di olive raccolte e consegnate agli impianti di trasformazione				esclusione dalla certificazione		✓
Olive ottenute da aziende agricole aderenti al Disciplinare.				esclusione dalla certificazione		✓

3.10. Confezionamento

Il confezionamento delle olive deve essere effettuato previa rimozione delle salamoie di fermentazione e stoccaggio, lavaggio delle medesime con acqua potabile e loro successiva immissione in una salamoia di confezionamento caratterizzata da una concentrazione salina compresa tra il 4% ed il 6%. Valori più bassi possono essere applicati ad olive confezionate e successivamente pastorizzate mentre valori più elevati sono consigliati nei casi di confezionamento di olive non soggette a trattamento termico. Il confezionamento può avvenire in vaschette di varia dimensione e forma o in vasetti di vetro, in relazione alle diverse scelte aziendali. Il processo di condizionamento termico delle olive mediante pastorizzazione alta o sterilizzazione, viene consigliato.

COSA FARE	Frequenza	Documentabilità	Responsabile	GESTIONE N. C.	RACC.	CERT.
Confezionare le olive adottando un'apposita salamoia di confezionamento.						✓
Trattamento termico del prodotto confezionato			confezionatore	esclusione dalla certificazione	✓	

3.11 Etichettatura

Ciascun contenitore deve essere provvisto di etichetta corrispondente ai requisiti stabiliti dalle vigenti disposizioni di legge.

Sull'etichetta saranno riportate a caratteri di stampa chiari e leggibili le seguenti indicazioni:

- varietà di olivo;
- ingredienti;
- il simbolo grafico (descrizione dettagliata, forma, dimensione, colori, etc.);
- generalità della ditta produttrice/confezionatrice;
- il nome, la ragione sociale e l'indirizzo dell'azienda produttrice e confezionatrice;
- il peso netto e il peso sgocciolato contenuto nella confezione;
- il n. del lotto;
- data di scadenza del prodotto.



Una contro-etichetta con informazioni nutrizionali viene consigliata. La predisposizione di tale etichetta è regolamentata dal D.lvo. 77/1993 (attuazione della Direttiva 90/496/CEE) e successive modifiche e aggiornamenti (D.M. 18.3.2009 che recepisce la Direttiva 2008/100/CE). Le informazioni riportate in etichetta vengono riferite a 100 g di porzione edibile (in questo caso polpa di olive senza nocciolo).

COSA FARE	Frequenza	Documentabilità	Responsabile	GESTIONE N. C.	RACC.	CERT.
Etichetta					✓	
Etichetta nutrizionale					✓	

3.12 Stoccaggio delle olive da tavola confezionate, movimentazione e messa in vendita

La fase di stoccaggio e movimentazione delle olive da tavola in fase di post-confezionamento andrebbe effettuata riducendo il danno apportato alle olive sia da condizioni di temperatura che di luminosità non idonei alla corretta conservazione del prodotto. In questo contesto si dovrebbe prevedere l'uso di sistemi di imballaggio in grado di ridurre/eliminare il contatto delle olive con la luce e di minimizzare gli effetti negativi di periodi più o meno brevi di stoccaggio ad elevate temperature. È consigliato, quindi, l'utilizzo di imballaggi a bassissima permeabilità luminosa (cartone) ed isolanti nei riguardi degli scambi termici (polistirolo).

I locali di stoccaggio delle olive in fase di pre-distribuzione dovrebbero permettere condizioni di bassa luminosità e temperature non superiori a 20°C. Gli scaffali di vendita delle olive andrebbero posizionati in aree caratterizzate da temperature non superiori a 20°C evitando, nel contempo, elevati livelli di luminosità.

COSA FARE	Frequenza	Documentabilità	Responsabile	GESTIONE N. C.	RACC.	CERT.
Imballaggio secondario che protegge dalla luce (cartone) e dalle elevate temperature (polistirolo).					✓	
Imballaggio secondario che riporta la dicitura TEME LA LUCE E IL CALORE	Per ogni imballaggio secondario	Visiva	Confezionatore	Uso di imballaggi secondari idonei	✓	
I locali di stoccaggio in fase di pre-distribuzione a bassa luminosità e temperature non superiori a 20 °C.					✓	
Gli scaffali di vendita delle olive andrebbero posizionati in aree a temperature <20 °C evitando, nel contempo, elevati livelli di luminosità.					✓	

3.13 Gestione dei quantitativi confezionati

La quantità di olive da tavola italiane di alta qualità confezionata è coerente con la quantità di olive da tavola italiane di alta qualità prodotta dalle aziende di trasformazione aderenti al Disciplinare.

COSA FARE	Frequenza	Documentabilità	Responsabile	GESTIONE N. C.	RACC.	CERT.
Quantità di olive da tavola confezionata coerente con la quantità di olive da tavola prodotta				esclusione dalla certificazione		✓
Olive da tavola ottenute da aziende di trasformazione aderenti al Disciplinare.				esclusione dalla certificazione		✓

4. SEZIONE DISTRIBUZIONE

4.1. Immagazzinamento

Una corretta gestione del magazzino è fondamentale per ridurre le scorte e per garantire un elevato livello di servizio al cliente in termini di puntualità e frequenza delle consegne. In quest'ottica, il magazzino non può più essere inteso come un centro di accumulo di materiali, ma diviene un centro produttivo di servizi dove non solo si stoccano e movimentano i prodotti ma si coordina anche il rapporto tra fornitori e clienti. In questa fase si includono lo stoccaggio nella piattaforma distributiva e quello presso il magazzino del punto vendita. È evidente però che i due momenti possono presentare criticità diverse per separazione dei colli, rotazione e possibilità di controllo della temperatura. Lo stoccaggio all'interno del magazzino del punto vendita appare più critico rispetto a quello nella piattaforma, poiché il primo, a causa delle ridotte dimensioni, spesso non è adeguatamente informatizzato. Sono quindi maggiori i rischi di errore nella rotazione dei lotti o nella collocazione del prodotto, soprattutto in periodi particolarmente movimentati come le festività. La gestione del magazzino nelle grandi piattaforme distributive, che dispongono di migliaia di posti pallet, deve essere completamente automatizzata per consentire una corretta ed efficiente rotazione dei lotti. I materiali gestiti nel magazzino sono sottoposti generalmente a tre fasi di lavorazione: ricevimento e controllo in entrata; posizionamento; allestimento e preparazione per la distribuzione.

Al ricevimento nella piattaforma distributiva vanno effettuati controlli sul carico per verificarne:

- le quantità e le tipologie consegnate;
- l'integrità del pallet e delle confezioni;
- la vita residua del prodotto.
- In particolare su quest'ultima vi è grande attenzione perché da ciò dipende la corretta rotazione dei lotti in magazzino secondo la modalità FIFO per cui il prodotto che entra per primo deve essere il primo ad uscire. I requisiti rigorosamente controllati riguardano la shelf life del prodotto:
 - vita residua del prodotto alla consegna, non deve risultare inferiore ai 2/3 del termine minimo di conservazione indicato in etichetta;
 - scadenza del prodotto, va rispettato il principio per cui consegne successive devono avere scadenze successive.

Il posizionamento del materiale viene effettuato su apposite strutture portanti (scaffalature portapallet) che in base alla tipologia costruttiva possono condizionare la disposizione del magazzino e i criteri di movimentazione.

La qualità di un prodotto durante lo stoccaggio può essere compromessa anche dall'area di collocazione del prodotto e dalle caratteristiche costruttive della piattaforma, in particolare dall'altezza dei locali e dal tipo di illuminazione.

Sarebbe opportuno che il personale addetto alla collocazione delle merci mantenesse le olive confezionate lontane dalle fonti di luce e calore, evitando, ad esempio, i bancali più alti se più vicini alla sorgente luminosa, dove anche la temperatura è più elevata. La temperatura dell'area di stoccaggio andrebbe monitorata e, soprattutto nei mesi più caldi, andrebbe garantito il mantenimento di temperature comprese tra 15 e 25 °C. Per agevolare la rotazione dei pallet secondo il principio del FIFO possono essere utilizzate particolari scaffalature (drive through) in cui i pallet appartenenti allo stesso codice prodotto, collocati in una corsia, escono dalla parte opposta all'entrata per mezzo di rulli che ne permettono lo scorrimento. A causa dell'importanza cruciale di questa fase sulla qualità del prodotto, vanno effettuati periodici controlli in piattaforma per verificare la corretta gestione delle merci. Non appena i pallet arrivano in piattaforma vengono stoccati nei "posti scorta", per preparare la merce destinata ai diversi punti vendita, il pallet viene aperto e i cartoni sistemati nei "posti picking". È evidente quindi che le informazioni eventualmente riportate sull'involucro esterno del pallet devono essere ripetute chiaramente anche sull'imballaggio secondario. Questa è la fase più delicata nella gestione del magazzino.

L'introduzione di una codifica e l'uso di sistemi informatici di lettura dei codici a barre permette di identificare univocamente ciascun prodotto ed individuarne esattamente la collocazione eliminando gli errori nei prelievi. La fase di imballaggio finale per la formazione dell'unità di carico destinata alla spedizione deve essere svolta con attenzione per ridurre errori e facilitare il carico



dei mezzi di trasporto. La complessità dei moderni sistemi di gestione del magazzino richiede la presenza di personale adeguatamente qualificato e costantemente aggiornato.

COSA FARE	Frequenza	Documentabilità	Responsabile	Gestione N. C.	RACC.	CERT.
La vita residua del prodotto alla consegna, non deve essere inferiore ai 2/3 del termine minimo di conservazione indicato in etichetta					✓	
Rispettare il principio per cui consegne successive devono avere scadenze successive.					✓	
Tenere le olive confezionate lontano dai lucernari.					✓	
Le informazioni eventualmente riportate sull'involucro esterno del pallet devono essere ripetute chiaramente anche sull'imballaggio secondario: TENERE LONTANO DA LUCE E CALORE					✓	

4.2. Trasporto

Le responsabilità sul mantenimento delle perfette condizioni del carico durante il trasporto alla piattaforma distributiva ricadono sul confezionatore, che può effettuarlo direttamente con mezzi propri, oppure rivolgersi a ditte specializzate. È fondamentale controllare che il trasporto avvenga secondo le istruzioni previste dai capitoli stabiliti dall'azienda committente soprattutto relativamente alla scelta del mezzo e del percorso. È preferibile che la fase di trasporto dell'olio duri il minor tempo possibile. Per questo la scelta del vettore dovrebbe essere valutata soprattutto sulla base dei tempi, della puntualità di consegna e delle garanzie igienico sanitarie.

Le principali criticità del trasporto sono rappresentate dalle eventuali soste nel piazzale di carico e dalla durata della fase di carico stessa. Qualora i tempi di carico dovessero protrarsi a lungo, il prodotto verrebbe esposto a condizioni ambientali difficilmente controllabili soprattutto per quanto concerne la temperatura. Per proteggere il prodotto dalla luce e dalle temperature troppo elevate o troppo basse bisogna evitare che il prodotto pronto per la spedizione stia a lungo sul piazzale prima dell'effettuazione del carico. Anche durante le soste intermedie che si effettuano durante il trasporto bisogna concordare il rispetto di opportune precauzioni, quali ad esempio la sosta sotto ripari ombreggiati nei mesi più caldi, che evitino un'eccessiva permanenza del carico in condizioni di temperatura non ottimali.

Riguardo alle tipologie di mezzi di trasporto utilizzati è senz'altro da sconsigliare l'impiego di mezzi telonati che non offrono una sufficiente protezione al carico. In ogni caso sarebbe buona norma dotare il mezzo di trasporto di un sistema per un monitoraggio della temperatura a livello del carico e stabilire le procedure per controllare che questa rientri nei limiti consigliati, qualora non sia possibile utilizzare mezzi coibentati.

Sinonimo di serietà e attenzione per il prodotto è sicuramente l'attenzione per quei punti critici della fase di stoccaggio che potrebbero alterare il prodotto come la vicinanza a fonti di luce e calore, la tipologia di luci impiegate (naturali o artificiali come alogene), l'esposizione diretta ai raggi solari, la verifica di eventuali anomalie (tappi graffiati, ammaccati, etichette rotte o unte) che compromettano la sicurezza e l'estetica del prodotto, il controllo dell'adeguata tensione del film che avvolge il carico e dell'integrità e stabilità dei pallet.

COSA FARE	Frequenza	Documentabilità	Responsabile	Gestione N. C.	RACC.	CERT.
Trasporto delle olive confezionate nel minor tempo possibile.					✓	
Evitare che il prodotto stia a lungo sul piazzale prima del carico.					✓	
Soste intermedie sotto ripari ombreggiati nei mesi più caldi.					✓	
Non utilizzare mezzi telonati					✓	

4.3. Esposizione al punto vendita

La collocazione del prodotto sullo scaffale riveste un ruolo strategico per la sua vendita, essa è studiata per comunicare con il consumatore e indurlo all'acquisto. Andrebbero evitati periodi di

sosta alla scaffale particolarmente lunghi ed esposizioni alla luce diretta ed a fonti di calore, al fine di evitare modificazioni del colore del prodotto.

COSA FARE	Frequenza	Documentabilità	Responsabile	Gestione N. C.	RACC.	CERT.
Dimensionare lo scaffale in funzione delle vendite del prodotto.					✓	
Mantenere la temperatura del locale di vendita a 20 - 22 °C.					✓	

5. SEZIONE ETICA

I soggetti della filiera ALTA QUALITÀ delle olive da tavola devono garantire a tutti i soggetti coinvolti nel processo produttivo idonee condizioni di vita e di lavoro, coinvolgendo in questo impegno anche i propri fornitori.

Questo significa non solo la concreta e corretta applicazione di tutte le normative in materia di contratti di lavoro e di sicurezza sul lavoro ma un impegno concreto da parte delle organizzazioni coinvolte nella filiera per migliorare le condizioni di vita e di lavoro soprattutto a livello della produzione primaria e cioè a livello dei produttori di olive italiani.

Tra gli obiettivi di miglioramento vi è quello di assicurare un prezzo equo ai produttori di olive da tavola, il che significa attribuire annualmente un prezzo definito nell'ambito di accordi inter-professionali e di filiera e soprattutto garantire a tutti i destinatari del prodotto la trasparenza del prezzo indicando in quello di vendita la percentuale destinata al fornitore immediatamente precedente.

Per il raggiungimento degli obiettivi in materia di sicurezza sul lavoro tutte le organizzazioni coinvolte si impegnano a sostenere i fornitori immediatamente precedenti nell'organizzazione ed erogazione di servizi di formazione in materia di sicurezza sul lavoro e, se del caso, a assicurare i servizi informativi e tecnici in materia che dovessero risultare carenti, fornendo anche il personale qualificato all'uopo necessario.

5.1. Non discriminazioni

Le organizzazioni delle filiere, nel quadro della legislazione regionale, nazionale, comunitaria e internazionale vigente in materia di occupazione e di rapporti sul lavoro, e dei contratti collettivi, devono:

- non attuare e rimuovere ogni causa di discriminazione nella selezione, assunzione, retribuzione, promozione formazione, licenziamento e pensionamento, sulla base di motivi di etnia, colore, genere, religione, opinione politica, nazionalità, status sociale, status civile, appartenenza a popolazioni indigene, età, genetica, salute (inclusi i casi di HIV/AIDS), disabilità, gravidanza, maternità e orientamento sessuale.
- non interferire, se non per reali necessità debitamente documentabili, con l'esercizio del diritto del personale di seguire principi o pratiche, o di soddisfare bisogni connessi a etnia, ceto, origine nazionale, religione, invalidità, genere, orientamento sessuale, appartenenza sindacale o affiliazione politica.
- opporsi a qualsiasi forma di discriminazione diretta o indiretta e/o molestia ai danni di individui o gruppi, da parte di altre persone o gruppi, impegnandosi a prevenire ed intervenire per far cessare comportamenti che possono sfociare in aggressione fisica, sessuale, razziale, psicologica o verbale.

5.2. Lavoro minorile

Le organizzazioni delle filiere, nel quadro della legislazione regionale, nazionale, comunitaria e



internazionale vigente in materia di occupazione e di rapporti sul lavoro e dei contratti collettivi:

- devono non utilizzare o accondiscendere all'utilizzo di minori in alcun tipo di occupazione prima che questi abbiano concluso l'obbligo scolastico e abbiano raggiunto i 16 anni di età.
- possono impiegare i/le minori di 16 anni unicamente su autorizzazione delle autorità competenti in materia di lavoro, previo assenso scritto dei titolari della potestà genitoriale, ed unicamente in attività lavorative di carattere culturale, artistico, sportivo o pubblicitario e nel settore dello spettacolo, purché si tratti di attività che non pregiudicano la sicurezza, l'integrità psico-fisica e lo sviluppo del/della minore, la frequenza scolastica o la partecipazione a programmi di orientamento o di formazione professionale.
- possono impiegare persone di età compresa tra i 16 e i 18 anni che abbiano comunque assolto l'obbligo scolastico in lavori che per loro natura o circostanze non siano pericolosi, o che siano condotti secondo modalità che non compromettano la loro salute, sicurezza e sviluppo fisico e psichico.

COSA FARE	Frequenza	Documentabilità	Responsabile	GESTIONE N. C.	RACC.	CERT.
Non attuare e rimuovere ogni causa di discriminazione nella selezione, assunzione, retribuzione, promozione formazione, licenziamento e pensionamento.	Almeno il 10% dei dipendenti	Interviste con i lavoratori, eventuale documentazione circa le politiche aziendali di responsabilità sociale (RS)	Rappresentante legale azienda	Esclusione dalla certificazione		✓
Non interferire con l'esercizio del diritto del personale di seguire principi o pratiche, o di soddisfare bisogni connessi a etnia, ceto, origine nazionale, religione, invalidità, genere, orientamento sessuale, appartenenza sindacale o affiliazione politica.	Almeno il 10% dei dipendenti	Interviste con i lavoratori, eventuale documentazione circa le politiche aziendali di RS	Rappresentante legale azienda	Esclusione dalla certificazione		✓
Opporsi a qualsiasi forma di discriminazione diretta o indiretta e/o molestia ai danni di individui o gruppi, da parte di altre persone o gruppi.	Almeno il 10% dei dipendenti	Interviste con i lavoratori, eventuale documentazione circa le politiche aziendali di RS	Rappresentante legale azienda	Esclusione dalla certificazione		✓

5.3. Lavoro forzato, obbligatorio o in condizioni di schiavitù

Le organizzazioni delle filiere, nel quadro della legislazione regionale, nazionale, comunitaria e internazionale vigente in materia di occupazione e di rapporti sul lavoro e dei contratti collettivi, devono:

- non utilizzare o dare sostegno all'utilizzo di lavoro forzato o obbligato, o ad altre forme odierne di schiavitù.
- favorire il lavoro nelle carceri rispettando le condizioni stabilite dalla Convenzione ILO n. 29.

COSA FARE	Frequenza	Documentabilità	Responsabile	GESTIONE N. C.	RACC.	CERT.
Non utilizzare o dare sostegno all'utilizzo di lavoro forzato o obbligato, o ad altre forme odierne di schiavitù.	Almeno il 10% dei dipendenti	Verifica sui luoghi di lavoro, intervista con il personale ed eventuali SH	Rappresentante legale azienda	Esclusione dalla certificazione		✓
Favorire il lavoro nelle carceri rispettando le condizioni stabilite dalla Convenzione ILO n. 29.					✓	

5.4. Libertà di associazione e contrattazione collettiva

Le organizzazioni delle filiere, nel quadro della legislazione regionale, nazionale, comunitaria e internazionale vigente in materia di occupazione e di rapporti sul lavoro e dei contratti collettivi, devono:

- rispettare la libertà di associazione e il riconoscimento effettivo del diritto alla contrattazione collettiva;
- garantire che le lavoratrici e i lavoratori non siano discriminati a causa della loro appartenenza a sindacati o della loro partecipazione ad attività sindacali;
- garantire che i rappresentanti del personale non siano discriminati e possano comunicare con

i loro associati sul posto di lavoro;

- nel caso in cui il diritto alla libertà di associazione e di contrattazione collettiva sia limitato dalla legge o il cui esercizio sia reso difficile da circostanze obiettive, facilitare mezzi alternativi di associazione libera e indipendente e di contrattazione collettiva per tutto il personale;
- garantire che le lavoratrici e i lavoratori e i/le loro rappresentanti abbiano accesso ad informazioni, servizi e risorse, e assicurare le comunicazioni interne necessarie affinché i/le rappresentanti delle lavoratrici e dei lavoratori possano negoziare in modo efficace e senza danno agli interessi legittimi delle lavoratrici e dei lavoratori, non ostacolando in alcun modo l'associazione sindacale all'interno ed all'esterno della Organizzazione, rinunciando a condizionare in qualsiasi forma, direttamente o indirettamente, l'azione sindacale, non ostacolando la libera elezione da parte delle lavoratrici e dei lavoratori di loro rappresentanti entro le organizzazioni delle filiera.

COSA FARE	Frequenza	Documentabilità	Responsabile	GESTIONE N. C.	RACC.	CERT.
Rispettare la libertà di associazione e il riconoscimento effettivo del diritto alla contrattazione collettiva.	Almeno il 10% dei dipendenti	Interviste con i lavoratori	Rappresentante legale azienda	Esclusione dalla certificazione		✓
Garantire che i lavoratori non siano discriminati per l'appartenenza a sindacati per la partecipazione ad attività sindacali.	Almeno il 10% dei dipendenti	Interviste con i lavoratori, eventuale documentazione reperibile circa le politiche aziendali di RS	Rappresentante legale azienda	Esclusione dalla certificazione		✓
Garantire che i rappresentanti del personale non siano discriminati e possano comunicare con i loro associati sul posto di lavoro.	Almeno il 10% dei dipendenti	Interviste con i lavoratori, eventuale documentazione reperibile circa le politiche aziendali di RS	Rappresentante legale azienda	Esclusione dalla certificazione		✓
Nel caso in cui il diritto alla libertà di associazione sia limitato dalla legge o reso difficile da circostanze obiettive, facilitare mezzi alternativi di associazione libera e indipendente e di contrattazione collettiva per tutto il personale.	Almeno il 10% dei dipendenti	Interviste con i lavoratori, eventuale documentazione reperibile circa le politiche aziendali di RS	Rappresentante legale azienda	Esclusione dalla certificazione		✓
Garantire che i lavoratori e i loro rappresentanti abbiano accesso a informazioni, servizi e risorse, e assicurare le comunicazioni interne necessarie affinché possano negoziare in modo efficace	Almeno il 10% dei dipendenti	Interviste con i lavoratori, eventuale documentazione reperibile circa le politiche aziendali di RS	Rappresentante legale azienda	Esclusione dalla certificazione		✓

5.5. Retribuzione

Le organizzazioni delle filiera devono fornire ai alle lavoratrici e ai lavoratori una remunerazione equa per il lavoro svolto o da svolgere, liberamente concordata o fissata, sulla base della legislazione regionale, nazionale, comunitaria e internazionale nazionale vigente e dei contratti collettivi, e che sia sufficiente ad assicurare un adeguato standard di vita.

COSA FARE	Frequenza	Documentabilità	Responsabile	GESTIONE N. C.	RACC.	CERT.
Remunerazione equa per il lavoro svolto o da svolgere	Almeno il 10% dei dipendenti	Analisi buste paga e interviste con i lavoratori	Rappresentante legale azienda	Esclusione dalla certificazione		✓

5.6. Orario di lavoro

Le organizzazioni delle filiera devono rispettare l'orario di lavoro previsto dalla legislazione nazionale vigente in materia di occupazione e di rapporti sul lavoro, nonché dai contratti collettivi.

COSA FARE	Frequenza	Documentabilità	Responsabile	GESTIONE N. C.	RACC.	CERT.
Rispettare l'orario di lavoro previsto dalla legislazione nazionale vigente	Almeno il 10% dei dipendenti	Analisi Libro Unico del Lavoro e interviste con i lavoratori	Rappresentante legale azienda	Esclusione dalla certificazione		✓

5.7. Tutela e promozione della salute e sicurezza delle lavoratrici e dei lavoratori

Le organizzazioni delle filiere, nel quadro della legislazione regionale, nazionale, comunitaria e internazionale, dei regolamenti applicabili e delle pratiche vigenti in materia di salute e sicurezza negli ambienti di lavoro, devono:

- garantire un ambiente di lavoro salubre e sicuro, prendere adeguate misure per prevenire incidenti e danni alla integrità fisica e psicosociale, che possano verificarsi in relazione al lavoro o durante lo svolgimento del lavoro, minimizzando le cause di pericolo all'interno degli spazi e



dei luoghi di lavoro.

- prendere adeguate misure affinché i propri dipendenti non accusino stress o disagio lavorativi, ovvero vigilare affinché una lavoratrice o un lavoratore
- non divenga oggetto, da parte di colleghe/i e/o del management, in modo deliberato e sistematico di: pressioni o molestie psicologiche; maltrattamenti verbali ed offese personali; immotivata esclusione o marginalizzazione o boicottaggio dell'attività lavorativa; controlli senza che ella/egli lo sappia; applicazione di sanzioni senza motivo apparente, senza dare spiegazioni, senza tentare di risolvere i problemi insieme alla lavoratrice o al lavoratore; attribuzione di compiti dequalificanti in relazione al profilo professionale posseduto
- non accusi processi di logoramento o decadenza psicofisica indotti dal rapporto professionale con la clientela.

COSA FARE	Frequenza	documentabilità	Responsabile	GESTIONE N. C.	RACC.	CERT.
Garantire un ambiente di lavoro salubre e sicuro.	Almeno il 10% dei dipendenti	Valutazione dei rischi documentata e aggiornata.	Rappresentante legale azienda	Esclusione dalla certificazione		✓
Prendere adeguate misure affinché i propri dipendenti non accusino stress o disagio lavorativi.	Almeno il 10% dei dipendenti	Interviste con i lavoratori, eventuale documentazione circa le politiche aziendali di RS	Rappresentante legale azienda	Esclusione dalla certificazione		✓

5.8. Sviluppo delle conoscenze e competenze

Le organizzazioni delle filiera, nel quadro della legislazione regionale, nazionale, comunitaria e internazionale vigente in materia di occupazione e di rapporti sul lavoro e dei contratti collettivi, devono garantire la gestione delle risorse umane in modo tale da mettere tutto il personale nelle condizioni di svolgere le proprie mansioni in modo efficiente e sicuro e di avere pari opportunità di sviluppo di competenza e carriera.

COSA FARE	Frequenza	documentabilità	Responsabile	GESTIONE N. C.	RACC.	CERT.
Garantire la gestione delle risorse umane in modo da permettere al personale di svolgere le proprie mansioni in modo efficiente e sicuro e di avere pari opportunità di sviluppo di competenze e carriera.	Almeno il 10% dei dipendenti	Interviste con i lavoratori, eventuale documentazione reperibile circa le politiche aziendali di RS	Rappresentante legale azienda	Esclusione dalla certificazione	✓	Cert. dal 2013





FILIERA OLIVICOLA

ART DIRECTOR
Riccardo Diffidenti per Neroassoluto

GRAPHIC DESIGN
Marzia Tramontozzi

Finito di stampare nel mese di Marzo 2012
presso la Tipografia Grafica G&G srl - Via Santissima Trinità, 89 - 00047 Marino (Rm)