

# Produzione sperimentale in azienda di olive da tavola fermentate con o senza aggiunta di starter

**N. Simone, G. Di Loreto, M. Bacceli, S. Di Marco, M. Cellini, G. Vecchiotti, B. Lanza**

**25/05/2023 – CONVEGNO CONCLUSIVO**  
**Progetto «DEAOLIVA»**  
**CREA-IT Pescara**

**Relatore: Nicola Simone – CREA-IT PE**

# ***INTRODUZIONE***

- Esistono diversi metodi di deamarizzazione delle olive da tavola.
- L'obiettivo che tutti questi metodi hanno in comune è quello di ridurre lo spiccato sapore amaro dovuto all'elevato contenuto di sostanze fenoliche presenti.
- Tra i vari metodi, il metodo "al naturale" riveste particolare attenzione nella ricerca
- Nel metodo «al naturale», le olive vengono immerse in salamoia ed iniziano una fermentazione dovuta alla microflora spontanea presente sull'epicarpo, che dura per diversi mesi (circa 7-8).
- Nel corso degli anni sono state effettuate con successo diverse prove sperimentali "lab-scale" con colture starter di microrganismi selezionati, ma dalla bibliografia consultata vi sono scarse evidenze di dati ottenuti a livello industriale.
- Da qui nasce l'idea di effettuare una prova in azienda - quindi in condizioni produttive reali e con tutte le incognite del caso - allo scopo di studiarne i processi e tentare una fermentazione pilotata attraverso colture starter selezionate.

# PREPARAZIONE DELLA PROVA

- Le olive di cv. Leccino e di calibro 17+ sono state fornite dalla ditta Ficacci Olive Co. (Castel Madama - RM)
- Le olive, dopo lavaggio, defogliatura e selezione in base alla pezzatura, sono state poste nei fusti per la fermentazione.
- Si tratta di parte di un batch di diverse centinaia di fusti.
- La ditta ci ha messo a disposizione 5 barili, contenenti ciascuno circa 140 kg di olive e 80 kg di salamoia, scelti a random dall'intero batch in data 06/11/2021.





# PREPARAZIONE DELLA PROVA 2

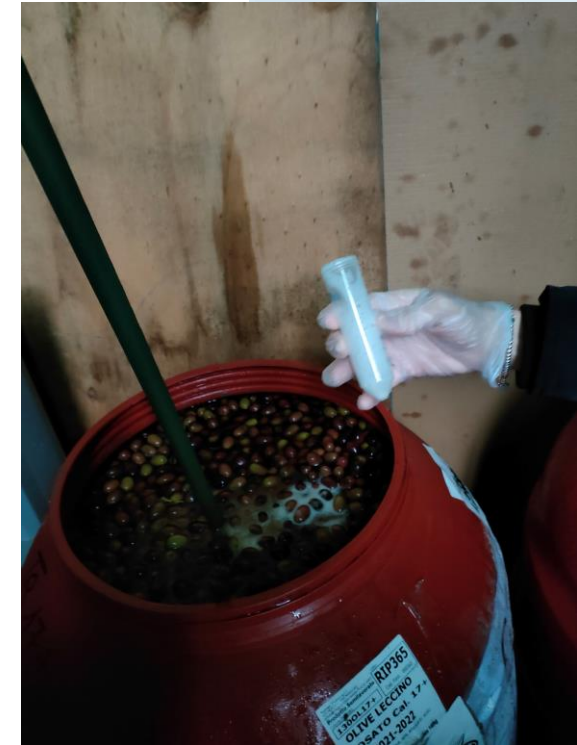
- I fusti sono stati scelti a caso in tutto il batch e trasportati in un capannone, al coperto
- Sono stati indicati con i codici N1, N2, G1, G2
- I fusti pieni di olive sono stati riempiti con salamoia all'8% circa di NaCl in acqua potabile.





## PREPARAZIONE DELLA PROVA 3

- I barili N1 ed N2 sono lasciati a fermentazione spontanea (due repliche)
- I barili G1 e G2 sono stati inoculati con una miscela starter di *Lactiplantibacillus plantarum* ceppo B1 (collezione CREA-IT PE) e *Saccharomyces cerevisiae* (collezione CREA-IT TO) (due repliche)
- Si aggiunge anche un quinto fusto, denominato FUIO, scelto a random dal batch esterno



In queste tabelle sono indicati i codici dei campioni ed i prelievi effettuati

Codice	Descrizione
N1	Fermentazione naturale spontanea (replica1)
N2	Fermentazione naturale spontanea (replica 2)
G1	Fermentazione guidata (replica 1)
G2	Fermentazione guidata (replica 2)
FUO	Fermentazione naturale all'aperto

DATA	GIORNI	DESCRIZIONE
06/11/2021	0	Preparazione fusti
02/12/2021	23	Inoculo fusti G1 e G2
09/12/2021	30	1° prelievo
16/12/2021	37	2° prelievo
13/01/2022	65	3° prelievo
03/03/2022	114	4° prelievo
16/06/2022	219	5° prelievo/fine fermentazione
20/09/2022	315	6° prelievo/shelf-life 3 mesi
07/12/2022	388	7° prelievo/shelf-life 6 mesi

DETERMINAZIONI ANALITICHE	OLIVE FRESCHE	DURANTE IL PROCESSO	FINE PROCESSO	SHELF LIFE 3 MESI	SHELF LIFE 6 MESI
Analisi microbiologiche (batteri lattici, lieviti e muffe, enterobatteri)	X	X	X	X	X
Fenoli polpa	X	X	X	X	X
Fenoli salamoia		X	X	X	X
Colore	X		X	X	
Umidità	X		X		
Ceneri	X		X		
Contenuto in olio	X		X		
Rapporto polpa/nocciolo	X		X	X	X
Contenuto sale polpa	X				
Contenuto sale salamoia		X	X	X	X
Acidità libera polpa	X				
Acidità libera salamoia		X	X	X	X
Analisi texturale (TPA e acustico)	X	X	X	X	X
Analisi sensoriale			X	X	



A partire da giugno 2022, sono stati effettuati prelievi anche sul fusto di olive stoccato all'aperto con il resto del batch di produzione (FUO), allo scopo di valutare in quale modo e con quali risultati i processi di trasformazione a fermentazione spontanea fossero avvenuti senza l'influenza esterna data dalle operazioni di prelievo di aliquote.

Stessa procedura è stata applicata anche nei due prelievi successivi durante la shelf-life, ovvero a 3 e 6 mesi dopo la fine del processo di fermentazione.

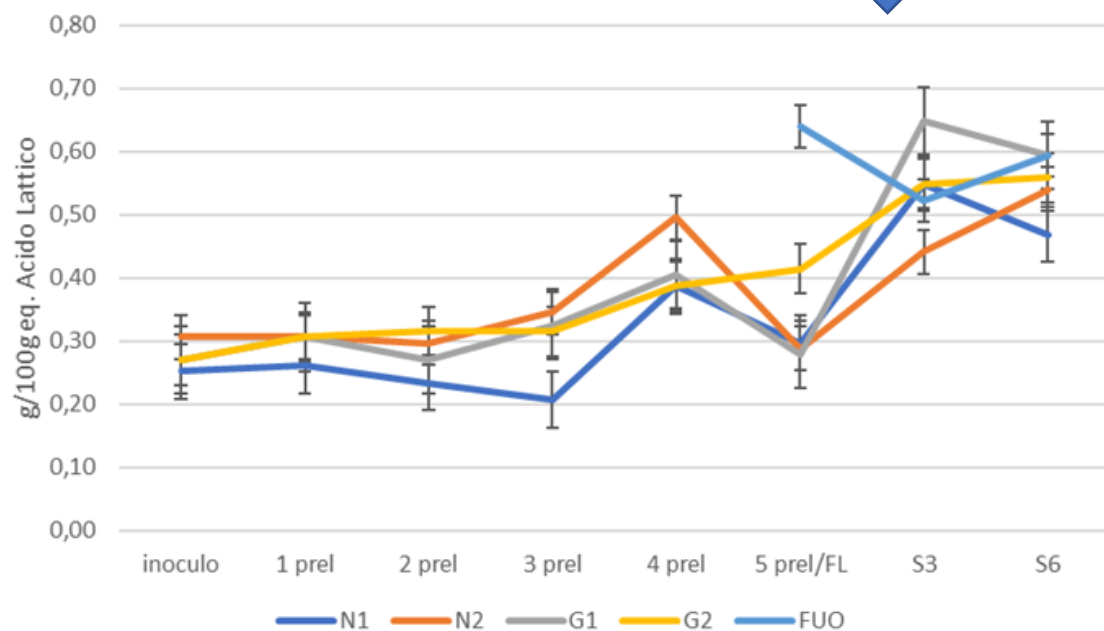




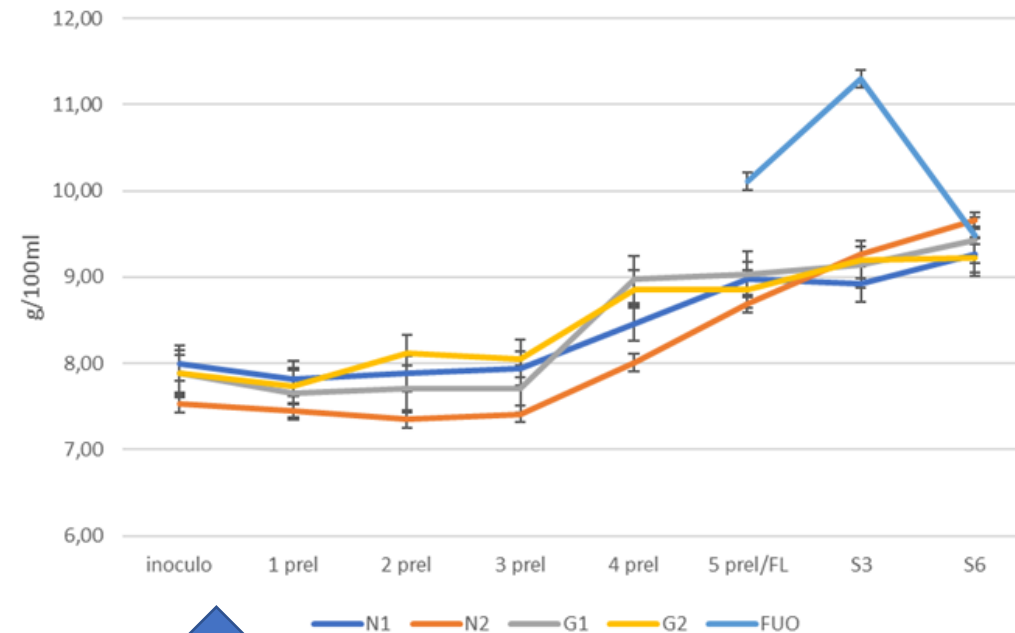
Come si può notare, l'andamento dell'acidità libera totale nella salamoia ha un andamento globalmente crescente in tutti i campioni, anche se non si evince dai primi prelievi.

Il fusto FUO è quello che presenta mediamente i valori più elevati

Acidità libera totale - salamoia

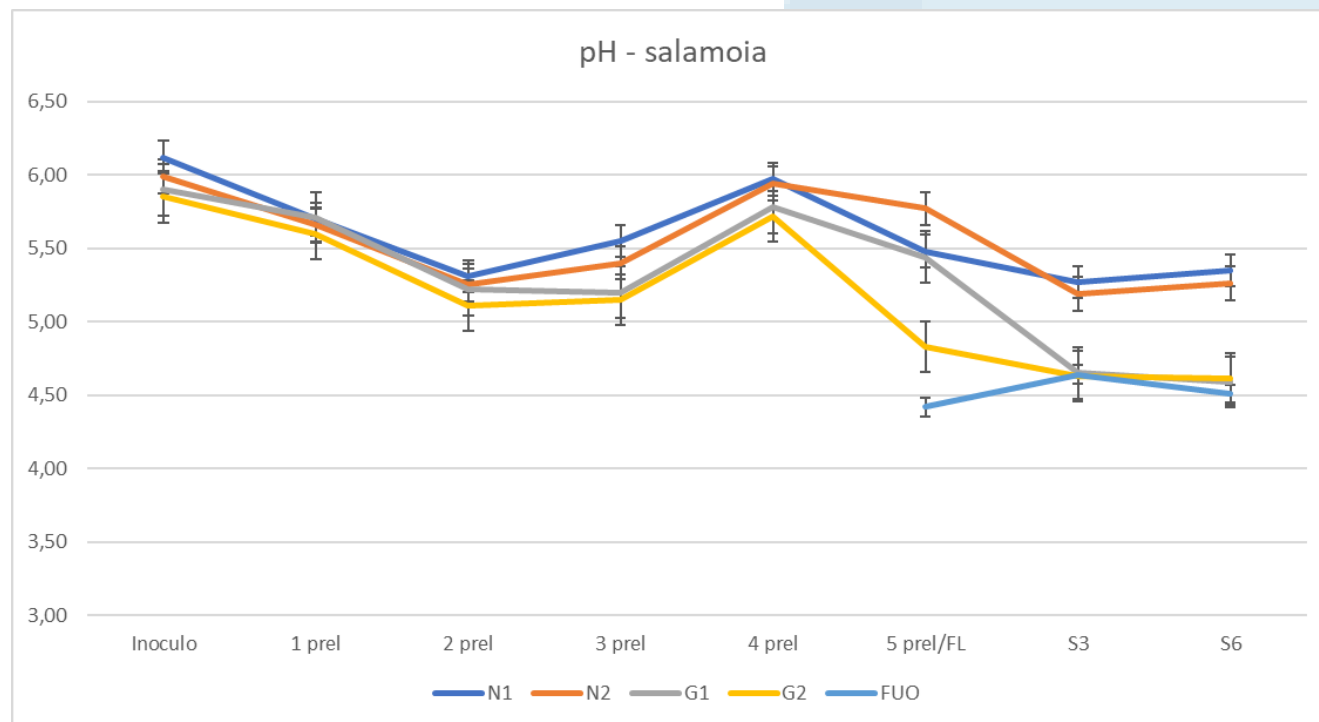


NaCl - salamoia



Il contenuto in NaCl delle salamoie segue un andamento piuttosto lineare e crescente, eccetto il fusto FUO che presenta valori molto più elevati.

- Tutti i fusti partono da valori di pH prossimi al neutro (5,85 – 6,12) in fase di inoculo.
- Si avverte un iniziale abbassamento del pH nelle prime fasi della fermentazione fino a raggiungere un minimo al 2° prelievo (5,15 – 5,55)
- Successivamente assistiamo ad un modesto rialzo che raggiunge il suo apice al 4° prelievo (5,72 – 5,97)
- Infine da un importante abbassamento tra il 5° e il 7° prelievo, con valori minimi per i fusti oggetto di inoculo, G1 e G2, al 7° prelievo (4,63 – 5,27).
- Il fusto di controllo all'esterno (FUO), nei tre prelievi presi in considerazione presenta valori di pH più bassi dei fusti oggetto di indagine, con valori al 5°, 6° e 7° prelievo, rispettivamente di 4,42 - 4,64 - 4,51.



## OLIVE FRESCHE

Parametri	FRUTTO FRESCO
Acidità libera (1)	0,44 +/- 0,01
Umidità (2)	69,53 +/- 0,08
Ceneri (3)	2,20 +/- 0,36
Sale (4)	0,60 +/- 0,01
P/N*	4,42
Contenuto in olio (5)	9,54 +/- 0,03

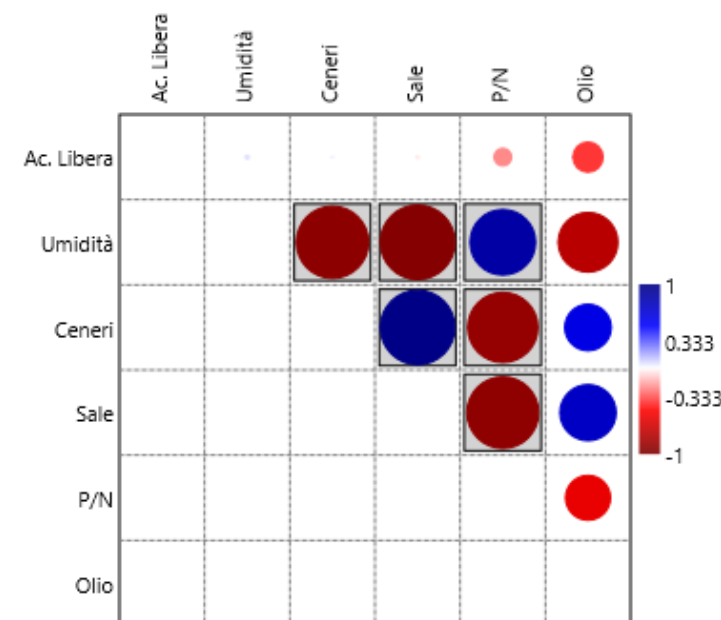
(1) g di acido lattico/100 g di polpa di olive; (2) g di H<sub>2</sub>O/100 g di polpa di olive; (3) g di ceneri/100 g di polpa di olive; (4) g di NaCl/100 g di polpa di olive; (5) g di olio/ 100 g di polpa di olive; \*P/N= rapporto polpa/nocciolo.

- Esistono delle correlazioni significative (Pearson) tra alcuni di questi parametri.
- La correlazione tra ceneri e rapporto polpa/nocciolo (P/N) è di non chiara interpretazione poiché per la determinazione delle ceneri si parte comunque da uguali quantitativi di polpa denocciolata.
- La correlazione tra sale e rapporto P/N: presumibilmente nelle olive con rapporto P/N maggiore il sale permea più lentamente i tessuti e pertanto olive che hanno un rapporto P/N minore offrono meno resistenza al passaggio del sale nei tessuti.
- Il contenuto in olio dei vari campioni, pur esprimendo alcune interessanti correlazioni, non riporta valori di  $p < 0,05$ .

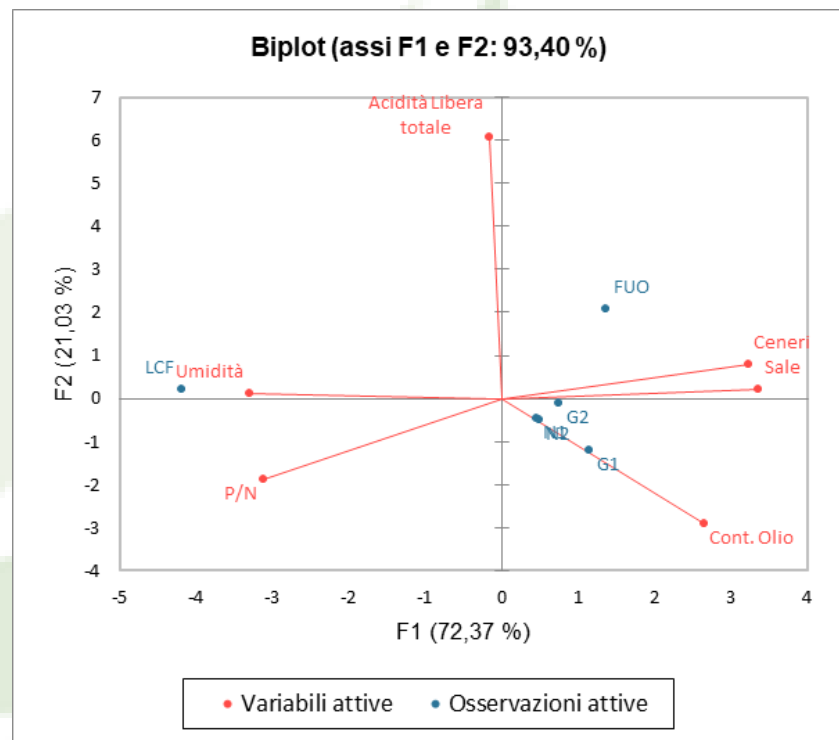
## OLIVE A FINE LAVORAZIONE (5° PREL.)

Parametri	N1	N2	G1	G2	FUO
Umidità (1)	62,19 +/- 0,01	63,93 +/- 0,35	61,48 +/- 0,56	62,66 +/- 0,04	61,63 +/- 0,08
Ceneri (2)	6,86 +/- 1,39	6,71 +/- 1,18	6,73 +/- 1,36	5,77 +/- 0,16	7,84 +/- 0,01
P/N*	3,83	3,63	3,81	3,63	3,42
Contenuto in olio (3)	10,74 +/- 0,24	11,03 +/- 0,50	12,13 +/- 0,30	11,70 +/- 0,30	10,67 +/- 0,00

(1) g di H<sub>2</sub>O/100 g di polpa di olive; (2) g ceneri/100 g di polpa di olive; (3) g di olio/100 g di polpa di olive; \*P/N= rapporto polpa/nocciolo.





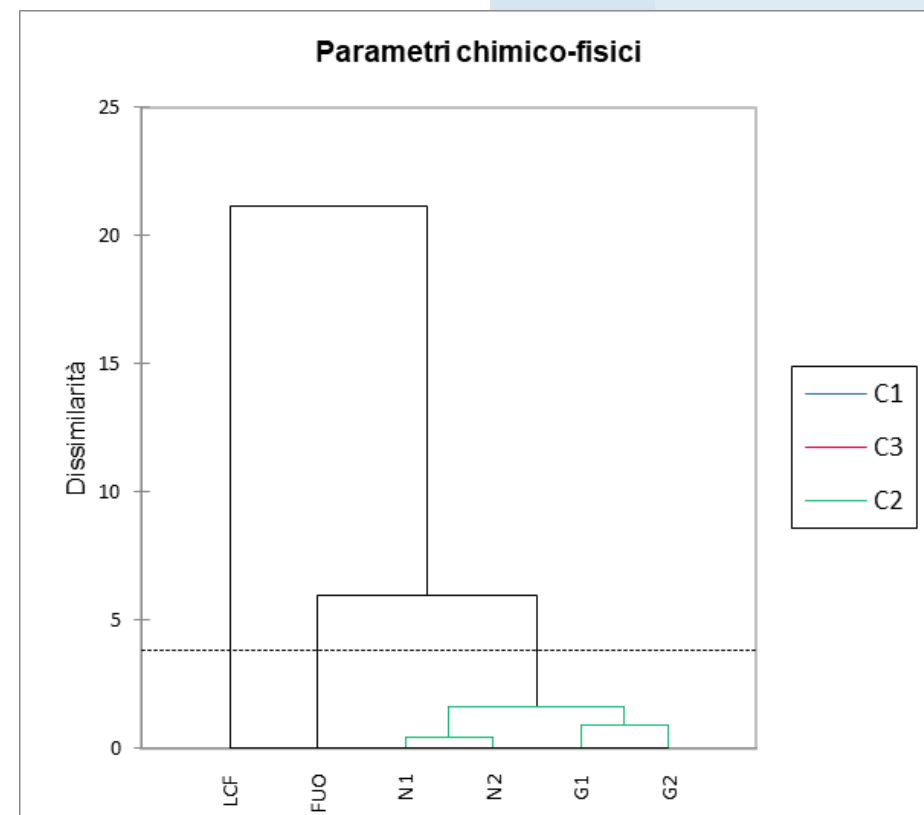


La PCA (Analisi delle Componenti Principali) nel biplot mostra come si sviluppano le diverse variabili e come vengono assegnati i diversi gruppi.

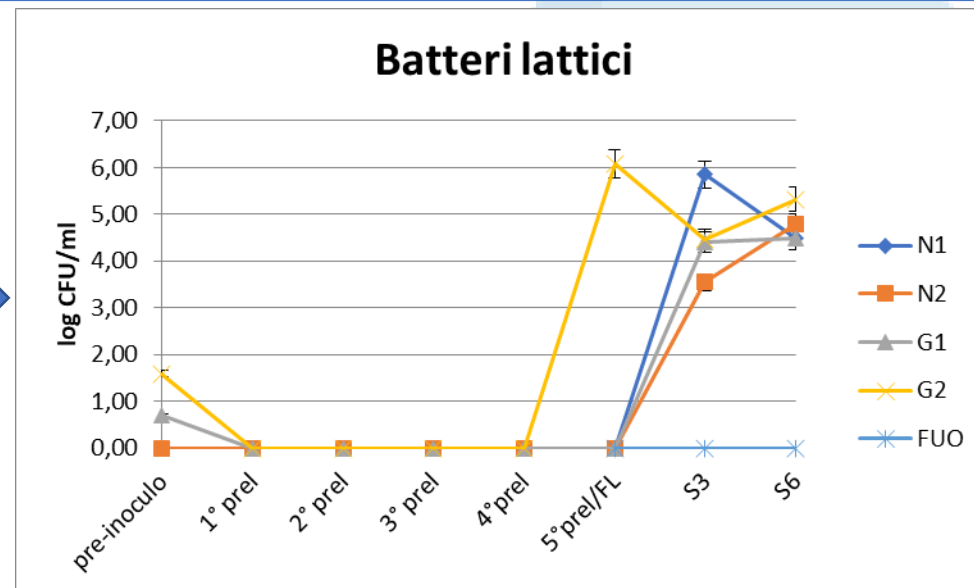
Si osserva una netta separazione tra il fresco e il fine fermentazione, come è logico attendersi.

Inoltre, i gruppi vengono distribuiti in maniera omogenea e risultano ben distanziati dal campione FUO

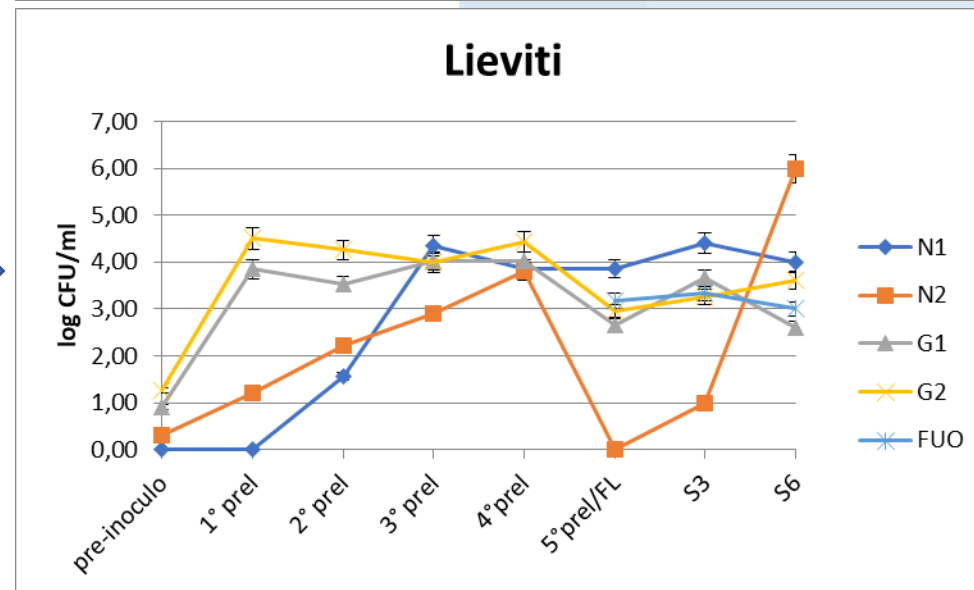
La CAG (Classificazione Ascendente Gerarchica), svolta utilizzando l'agglomerazione con metodo di Ward e taglio con indice di Hartigan (range 2:5) ci mostra come i diversi gruppi vengono classificati in maniera corretta formando tre clusters: i campioni oggetto di test, il campione esterno e il prodotto fresco



- Esaminando l'andamento dei batteri lattici, essi risultano assenti già a partire dal primo prelievo, nonostante siano stati anche inoculati di proposito con il nostro starter nei fusti G1 e G2, per crescere nel solo fusto G2 a partire dal 5° prelievo e successivamente, negli altri fusti (inclusi N1 ed N2) durante la shelf-life. Nel fusto FUO sono assenti.



- Per quanto riguarda i lieviti, abbiamo assistito ad andamenti diversi: i fusti della serie N hanno andamenti altalenanti, in particolare N2.
- G1 e G2 hanno andamenti simili e restano presenti per tutto il processo, subendo un calo importante a fine lavorazione (5° prelievo).
- Il fusto FUO, nei tre prelievi effettuati, non subisce cambiamenti importanti nella concentrazione di microrganismi.



Durante le analisi svolte, non sono stati MAI trovati enterobatteri né muffe

## ALCUNE IMMAGINI

Fusto G2 pre-inoculo



Fusto G2 primo prelievo



Temperatura salamoia 3°  
prelievo (13 gennaio 22)



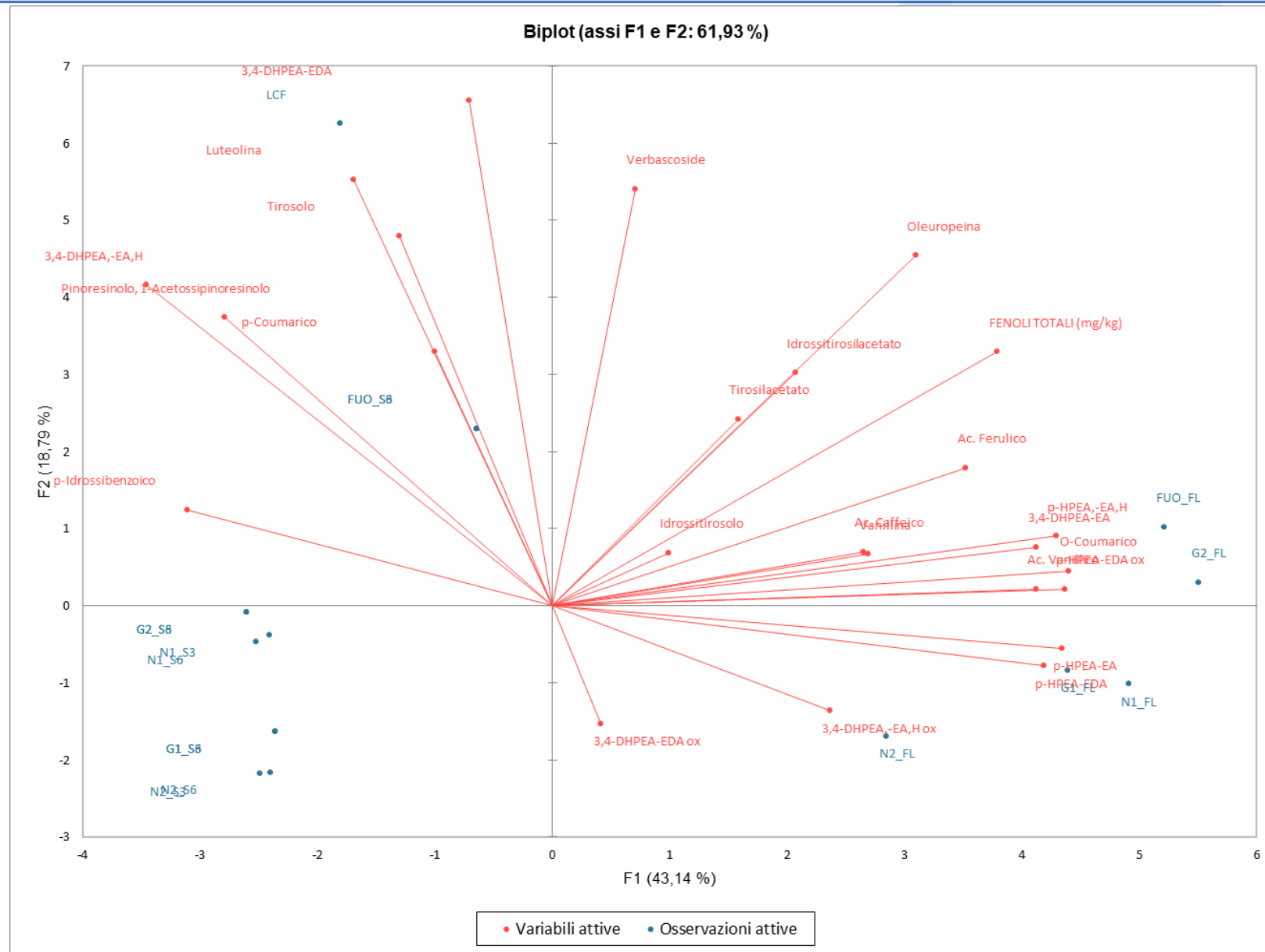


- Per quanto riguarda l'analisi del contenuto fenolico, sono state determinate le specie fenoliche mediante cromatografia liquida ad alta prestazione (HPLC) come descritto dal metodo COI.
- Ad ogni prelievo, aliquote di olive e salamoie sono state riservate all'analisi del relativo contenuto fenolico.
- I dati relativi al contenuto fenolico delle salamoie non sono illustrati in questa presentazione.
- I dati mostrati sono stati ottenuti mediante PCA e CAG considerando i valori ottenuti sulla polpa del prodotto fresco, sulla polpa dei prodotti dei 5 fusti a fine fermentazione (5° prelievo) e sulle polpe dei prodotti dopo shelf-life di 3 mesi (6° prelievo) e di 6 mesi (7° prelievo) all'interno dei singoli fusti.

Come si evince dal biplot, il prodotto fresco si pone chiaramente isolato dagli altri.

Anche FUO-S3 e -S6 sono perfettamente sovrapposti nel quadrante in alto a sinistra.

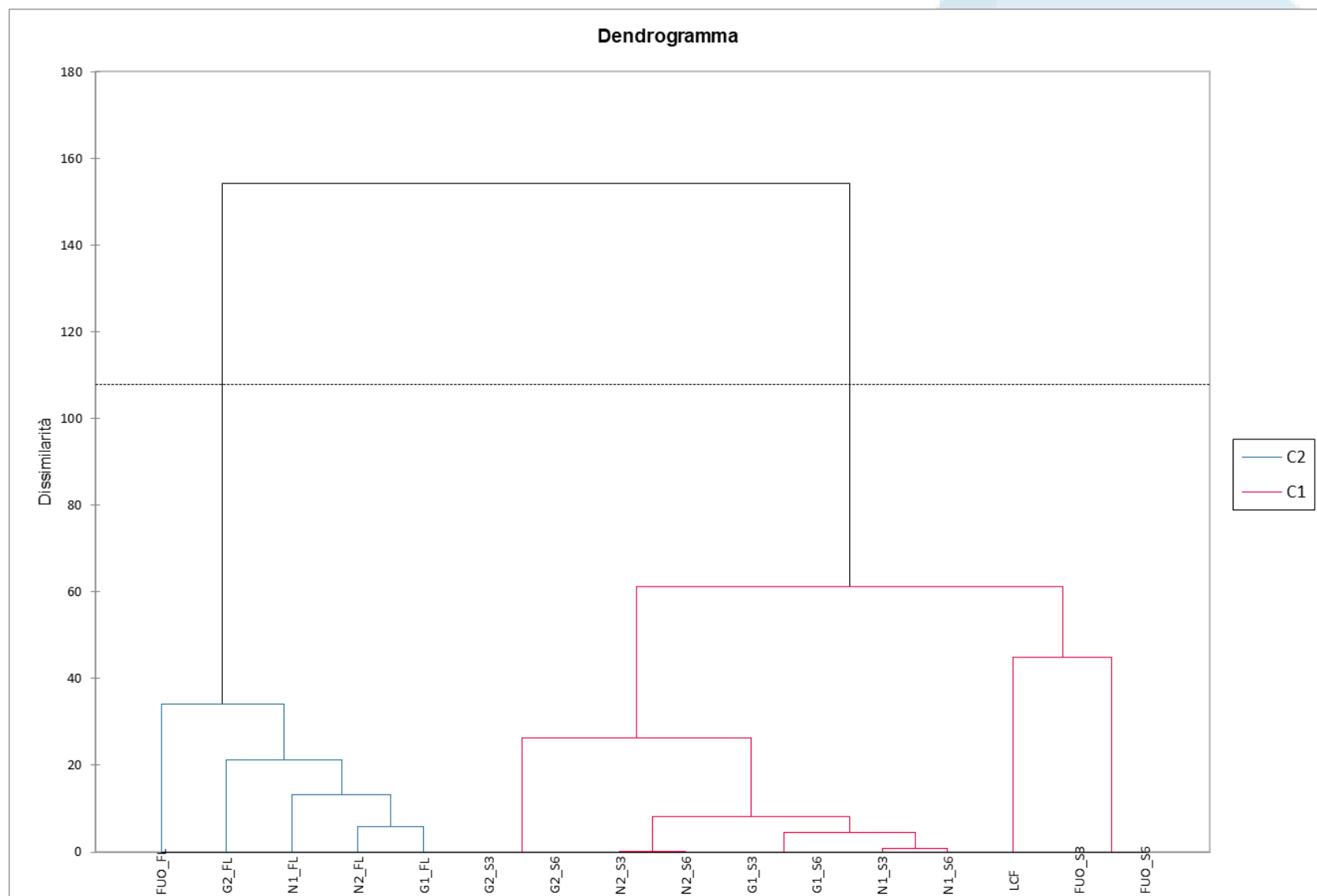
Gli altri campioni si separano chiaramente in base ai tempi di prelievo, come mostrato dal grafico risultante.



In questo caso osserviamo che la clusterizzazione discrimina fondamentalmente in due gruppi:

- Campioni a «fine lavorazione»
- Campioni a «shelf life»

E' interessante notare che nel cluster 1 (rosso) i prelievi S3 e S6 per singolo fusto mostrano poca o nessuna dissimilarità e che il campione fresco (LCF) viene anch'esso inserito nel cluster 1, prossimo al campione FUO





Questa indagine svolta a livello di produzione industriale ha presentato diverse incognite che prima non emergevano dalla bibliografia:

- il set di determinazioni analitiche ha chiaramente evidenziato che, nonostante la situazione di partenza analoga, i prodotti finiti presentano alcune differenze. Questo può essere dovuto ad una serie di fattori che includono: popolazione della microflora residente (a livello qualitativo e quantitativo), competizione tra microrganismi starter, presenza di eventuali batteriofagi, le condizioni climatiche, la dislocazione dei fusti e perfino le condizioni operative.
- L'evoluzione del profilo fenolico differenzia chiaramente il prodotto fresco dal prodotto finito ma caratterizza ulteriormente i diversi prodotti finiti. Questo può essere indice di diverse tipologie di deamarizzazione, a seconda del tipo di microflora che prende il sopravvento nella salamoia.
- La permanenza del prodotto nei fusti per un periodo di 3-6 mesi ulteriore alla fine della fermentazione (prelievi S3 e S6), influenza chiaramente il profilo fenolico, come si evince dall'analisi CAG.
- Il fusto esterno, denominato FUO, lasciato esposto alle variazioni climatiche, ha mostrato un comportamento dissimile dagli altri fusti sia per quanto riguarda i parametri chimico-fisici sia per il contenuto fenolico. Stessa cosa per quanto riguarda il profilo microbiologico, che vede completamente assenti i batteri lattici.

Nel nostro esperimento il lievito *Saccharomyces caerevisiae* si è dimostrato più efficace ed ha prevalso fin da subito sul batterio *Lactiplantibacillus plantarum*.

A cosa sia dovuta questa prevalenza è difficile dirlo con esattezza ma possiamo ipotizzare diversi fattori concomitanti:

1. l'impiego di salamoie ad elevata concentrazione di NaCl (10-12%)
2. la presenza di batteriofagi
3. gli sbalzi termici
4. la competizione microbica per micro e macronutrienti.



La sperimentazione condotta ha dimostrato che:

- ogni fusto è un ecosistema a sé stante.
- “guidare” una fermentazione è possibile, ma richiede molta esperienza, nonché la capacità di controllare una miriade di parametri ed eventualmente applicare, nel caso, misure correttive.

Riteniamo che il nostro lavoro possa rappresentare uno spunto interessante per future ricerche sul campo e un valido aiuto per le aziende operanti nel settore.







**DEA**  **LIVA**

Grazie per l'attenzione

<https://deaoliva.crea.gov.it/it>