

***Analytical solutions addressing olive oil
quality issues***

***Soluzioni analitiche indirizzate alla possibile
risoluzione di problemi di qualità***

ALIGNMENT AND PROFICIENCY OF VIRGIN OLIVE OIL SENSORY PANELS: THE OLEUM APPROACH

Sara BARBIERI¹, Karolina BRKIĆ BUBOLA², Alessandra BENDINI^{1,✉}, Milena BUČAR-MIKLAVČIČ³, Florence LACOSTE⁴, Ummuhan TIBET⁵, Ole WINKELMANN⁶, Diego Luis GARCÍA-GONZÁLEZ⁷, Tullia GALLINA TOSCHI¹

¹Alma Mater Studiorum - Università di Bologna, Italy; ²Institute of Agriculture and Tourism, Croatia; ³Science and Research Centre Koper, Slovenia; ⁴Institut des Corps Gras, France; ⁵Ulusal Zeytin ve Zeytinyağı Konseyi, Turkey; ⁶Eurofins Analytik GmbH, Germany; ⁷Instituto de la Grasa (CSIC), Spain; ✉alessandra.bendini@unibo.it; P.zza Goidanich 60, 47521, Cesena (FC), Italy. Tel.: +39-0547-338121

INTRODUCTION

This work aims to reinforce the methodology for sensory analysis of virgin olive oils (VOOs) through adoption of supporting tools for training and monitoring of sensory panels.

Although it has been responsible for improving the quality of VOOs, the Panel test is frequently under scrutiny; there are some critical issues related to questionable results in the case of borderline oils or misalignments on the main perceived defect (mpd) by panels [1]. Another problem in applying the panel test method depends on the lack of appropriate reference standards for the training of assessors [1, 2]. This work highlights possibilities for amelioration and describes the proficiency improvement given by formative training. Specifically, a new “decision tree” scheme for samples’ classification was developed and some IOC quality control procedures [3] were applied to a set of 334 commercial VOO samples evaluated by six sensory panels involved in the OLEUM project.

RESULTS

The classification of samples provided by the six panels was elaborated by applying a decision tree. The adopted tool is based on the agreement (more than 50% of panels) on the category and on the median of mpd and/or of the fruity attribute. If one of these two agreements was not reached, a first or second type of misalignment occurred, the sample was not classified and a formative reassessment (realized in a blind way and by the support of IOC reference materials and certified oils) was necessary. Moreover, quality control procedures were applied to check the validity of the results obtained in agreement with IOC guidelines. The adoption of these tools allowed for reliable classification of 289 of 334 VOOs; for the remaining 45, misalignments between panels of first or second type occurred. In these cases, a “formative reassessment” was necessary. At the end, 98.5% of VOOs were classified, thus confirming the effectiveness of this approach (see the Figure). The panels showed good performance, but the need to adopt new reference materials to improve the panel’s skills and agreement also emerged.

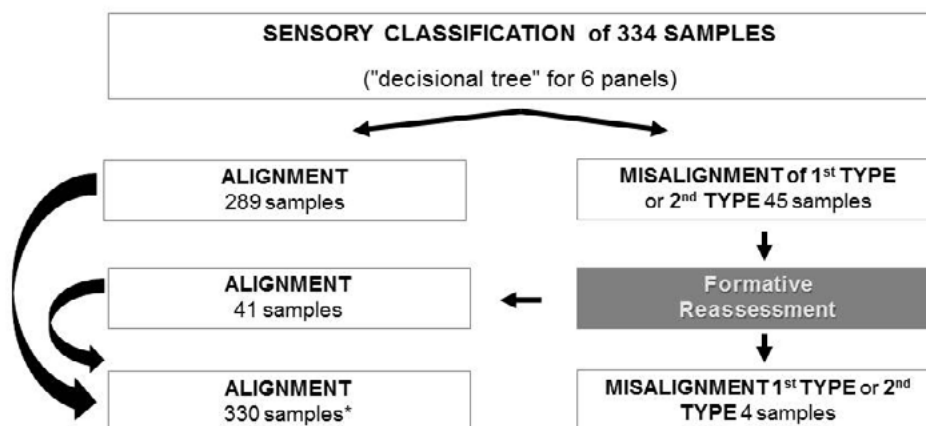


Figure - The organoleptic assessment following a decisional tree.

BIBLIOGRAPHY

- [1] L. Conte, A. Bendini, E. Valli, P. Lucci, S. Moret, A. Maquet, F. Lacoste, P. Brereton, D.L. García-González, W. Moreda, et al., Olive oil quality and authenticity: A review of current EU legislation, standards, relevant methods of analyses, their drawbacks and recommendations for the future. *Trends Food Sci. Technol.* 0-1 (2019).
- [2] G. Procida, A. Giomo, A. Cichelli, L., Conte Study of volatile compounds of defective virgin olive oils and sensory evaluation: a chemometric approach. *J. Sci. Food Agric.* 85, 2175–2183 (2005).
- [3] International Olive Council. Guidelines for the accomplishment of the requirements of the norm ISO 17025 by of sensory testing laboratories with particular reference to virgin olive oil; IOC/T.28/Doc.no.1/Rev.4; IOC: Madrid, Spain, 2018.

*This abstract is based on the published article S. Barbieri, K. Brkić Bubola, A. Bendini, M. Bučar-Miklavčič, F. Lacoste, U. Tibet, O. Winkelmann, D.L. García-González, T. Gallina Toschi, Alignment and proficiency of virgin olive oil sensory panels: application of the OLEUM decision tree and formative reassessment. *Foods* 9 (3), 355 (2020).*

ALLINEAMENTO ED EFFICIENZA DEI PANEL SENSORIALI CHE VALUTANO L'OLIO DI OLIVA VERGINE: L'APPROCCIO OLEUM

Sara BARBIERI¹, Karolina BRKIĆ BUBOLA², Alessandra BENDINI^{1,✉}, Milena BUČAR-MIKLAVČIČ³, Florence LACOSTE⁴, Ummuhan TIBET⁵, Ole WINKELMANN⁶, Diego Luis GARCÍA-GONZÁLEZ⁷, Tullia GALLINA TOSCHI¹

¹Alma Mater Studiorum - Università di Bologna, Italy; ²Institute of Agriculture and Tourism, Croatia; ³Science and Research Centre Koper, Slovenia; ⁴Institut des Corps Gras, France; ⁵Ulusal Zeytin ve Zeytinyağı Konseyi, Turkey; ⁶Eurofins Analytik GmbH, Germany;

⁷Instituto de la Grasa (CSIC), Spain;

✉alessandra.bendini@unibo.it; P.zza Goidanich 60, 47521, Cesena (FC), Italy. Tel.: +39-0547-338121

INTRODUZIONE

Questo lavoro mira a rafforzare la metodologia per l'analisi sensoriale degli oli vergini di oliva (VOOs) attraverso l'adozione di strumenti di supporto per l'addestramento ed il monitoraggio dei panel sensoriali.

Sebbene sia responsabile del miglioramento della qualità degli VOOs, il panel test è spesso sotto esame; ci sono alcune criticità legate a risultati discutibili nel caso di oli al limite tra due categorie o disallineamenti sul difetto maggiormente percepito (dmp) [1]. Un altro problema nell'applicazione del panel test dipende dalla mancanza di adeguati standard di riferimento per la formazione degli assaggiatori [1, 2].

E' stata messa in evidenza le possibilità di miglioramento delle competenze dei panel attraverso l'applicazione del riassaggio formativo. Nello specifico, è stato sviluppato un nuovo schema di "albero decisionale" per la classificazione dei campioni e sono state applicate alcune procedure COI di controllo qualità [3] a un set di 334 campioni di oli commerciali valutati da sei panel partecipanti al progetto OLEUM.

RISULTATI

La classificazione dei campioni fornita dai sei panel è stata elaborata applicando un albero decisionale. Lo strumento adottato si basa sull'accordo (più del 50% dei panel) sulla categoria e sulla mediana del dmp e/o dell'attributo fruttato. Se per uno di questi due criteri non viene raggiunto l'accordo, si verifica un disallineamento di primo o secondo tipo, il campione non viene classificato e si rende necessario un riassaggio formativo (realizzato in cieco e con il supporto di materiali di riferimento COI e oli certificati). Inoltre, sono state applicate procedure di controllo della qualità per verificare la validità dei risultati ottenuti in accordo con le linee guida COI. L'adozione di questi strumenti ha consentito di classificare in modo attendibile 289 su 334 VOOs; per i restanti 45, si sono verificati disallineamenti tra i panel di primo o di secondo tipo. In questi casi è stato necessario una "riassaggio formativo" (vedere la relativa Figura). E' stato possibile classificare il 98,5% dei campioni, confermando così l'efficacia di questo ap-

proccio. I panel hanno evidenziato buone prestazioni, ma è emersa anche la necessità di adottare nuovi materiali di riferimento per migliorare le competenze e l'accordo dei panel.

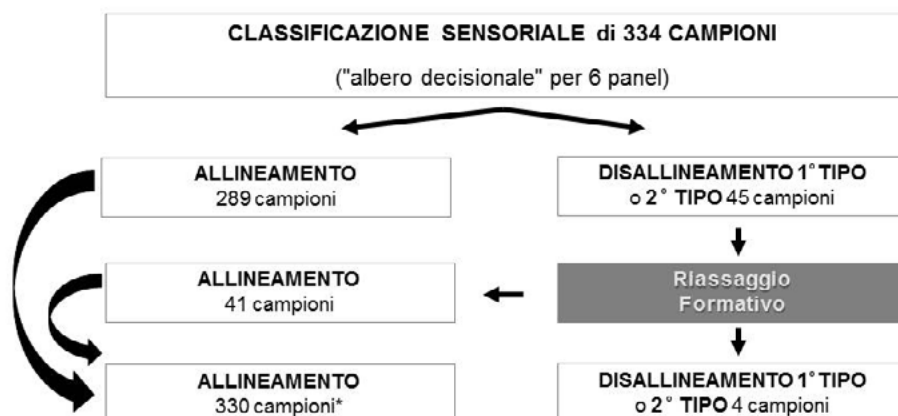


Figura - La valutazione organolettica seguendo l'albero decisionale.

BIBLIOGRAFIA

- [1] L. Conte, A. Bendini, E. Valli, P. Lucci, S. Moret, A. Maquet, F. Lacoste, P. Brereton, D.L. García-González, W. Moreda, et al., Olive oil quality and authenticity: A review of current EU legislation, standards, relevant methods of analyses, their drawbacks and recommendations for the future. *Trends Food Sci. Technol.* 0-1 (2019).
- [2] G. Procida, A. Giomo, A. Cichelli, L., Conte Study of volatile compounds of defective virgin olive oils and sensory evaluation: a chemometric approach. *J. Sci. Food Agric.* 85, 2175-2183 (2005).
- [3] International Olive Council. Guidelines for the accomplishment of the requirements of the norm ISO 17025 by of sensory testing laboratories with particular reference to virgin olive oil; IOC/T.28/Doc.no.1/Rev.4; IOC: Madrid, Spain, 2018.

Questo abstract è basato sull'articolo pubblicato S, Barbieri, K. Brkić Bubola, A. Bendini, M. Bučar-Miklavčič, F. Lacoste, U. Tibet, O. Winkelmann, D.L. García-González, T. Gallina Toschi, Alignment and proficiency of virgin olive oil sensory panels: application of the OLEUM decision tree and formative reassessment. Foods 9 (3), 355 (2020).

PERFORMANCE TESTING OF NEW ARTIFICIAL OLFACTORY REFERENCE MATERIALS IN VIRGIN OLIVE OIL SENSORY ASSESSMENT

Sara BARBIERI^a, Ramon APARICIO-RUIZ^{b,c}, Karolina BRKIĆ BUBOLA^d, Milena BUČAR-MIKLAVČIČ^e, Florence LACOSTE^f, Ummuhan TIBET^g, Ole WINKELMANN^h, Alessandra BENDINI^{i,✉}, Diego Luis GARCIA-GONZALEZ^b, Tullia GALLINA TOSCHI^a

^aDepartment of Pharmacy and Biotechnology, Alma Mater Studiorum - Università di Bologna, Bologna, Italy; ^bInstituto de la Grasa (CSIC), Campus Universidad Pablo de Olavide - Sevilla, Spain; ^cDepartment of Analytical Chemistry, Universidad de Sevilla, Sevilla, Spain; ^dInstitute of Agriculture and Tourism, Poreč, Croatia; ^eScience and Research Centre Koper, Koper, Slovenia; ^fInstitut des Corps Gras, Pessac, France; ^gUlusal Zeytin ve Zeytinyağı Konseyi, Izmir, Turkey; ^hEurofins Analytik GmbH, Hamburg, Germany; ⁱDepartment of Agricultural and Food Sciences, Alma Mater Studiorum - Università di Bologna, Bologna, Italy

✉Corresponding Author. Piazza Gabriele Goidanich, 47521 Cesena (FC), Italy. Phone: +390547338121
E-mail address: alessandra.bendini@unibo.it

INTRODUCTION

The study was focused on the characterization of two artificial olfactory Reference Materials (RMs), resembling winey-vinegary and rancid natural defects, to be used for selection and training of assessors and quality control of panels working on sensory analysis of virgin olive oils [1]. These new RMs were formulated by addition of particular volatile compound standards in the refined olive oil according to the approach previously described [2]. A same analytical protocol, was applied by the six panels involved in the OLEUM project in order to obtain three objectives:

- evaluation of the representativeness of RMs in order to establish if RMs are fit for their intended use;
- determination of the intensity value of the specific attribute of each RM assigned by consensus among panels (in the range covered by the stock solutions and dilutions);
- shelf-life evaluation of RMs checking possible significant changes of the intensity values of the specific attributes during 3 and 6-months storage of RMs (stock solution and dilutions).

*"Please, smell in a slight way and for a short time both RM and the Real sample.
Can the provided RM be considered useful for resembling the defect in a reproducible and measurable way?"*

*"If yes and considering that the real samples have an intensity of winey of 1.7 (Y)
and of rancid of 2.3 (X), which is the intensity of RMs?"*

Rancid RM	0	10
Winey-vinegary RM	0	10

Figure - Specific question asked to assessors with relation to i) and ii) objectives, specifically: i) evaluation of the representativeness of RMs in order to establish if RMs are fit for their intended use; ii) determination of the intensity value of the specific attribute of each RM assigned by consensus among panels (in the range covered by the stock solutions and dilutions).

RESULTS

The main results related to the three specific aims useful for the characterization of RMs, in agreement to ISO guide [3], can be summarized as follows: i) 97% and 82% of assessors judged the RMs of winey-vinegary and rancid, respectively, as representative of the related defects ii) the intensities of the specific defects (median values) of RM stock solutions and dilutions were assigned as well as the related parameters of uncertainty of measurement (e.g. robust standard deviation, robust coefficient of variation %, confidence intervals of the median at 95%) iii) when analysis of variance was applied, no significant differences of intensities for either RMs at different concentrations, passing from 0 to 3 or 6 months, were evidenced (storage carried out at 10-12°C in dark condition). Figure shows a specific question asked to assessors with relation to i) and ii) objectives.

BIBLIOGRAPHY

- [1] Guide for the Selection, Training and Quality Control of Virgin Olive Oil Tasters, Qualification of Tasters, Panel Leaders and Trainers. COI/T.20/Doc. No 14/Rev. 7/2021.
- [2] R. Aparicio-Ruiz, S. Barbieri, T. Gallina Toschi, D.L. García-Gonzalez. Formulations of rancid and winey-vinegary artificial olfactory reference materials (AORMs) for virgin olive oil sensory evaluation. *Foods* 9, 1870 (2020).
- [3] Reference materials — Guidance for characterization and assessment of homogeneity and stability. PD ISO GUIDE 35:2017.

This abstract is based on the published article S. Barbieri, R. Aparicio-Ruiz, K. Brkic-Bubola, M. Bucar-Miklavcic, F. Lacoste, U. Tibet, O. Winkelmann, A. Bendini, D.L. Garcia-Gonzalez, T. Gallina Toschi. Performance testing of new artificial olfactory reference materials in virgin olive oil sensory assessment. International Journal of Gastronomy and Food Science 25, 100402 (2021).

PROVE DI PRESTAZIONE DI NUOVI MATERIALI ARTIFICIALI DI RIFERIMENTO DI TIPO OLFATTIVO A SUPPORTO DELLA VALUTAZIONE SENSORIALE DELL'OLIO VERGINE DI OLIVA

Sara BARBIERI^a, Ramon APARICIO-RUIZ^{b,c}, Karolina BRKIC BUBOLA^d, Milena BUCAR-MIKLAVCIC^e, Florence LACOSTE^f, Ummuhan TIBET^g, Ole WINKELMANN^h, Alessandra BENDINI^{i,✉}, Diego Luis GARCIA-GONZALEZ^b, Tullia GALLINA TOSCHI^a

^aDepartimento di Farmacia e Biotecnologia, Alma Mater Studiorum - Università di Bologna, Bologna, Italia; ^bInstituto de la Grasa (CSIC), Campus Universidad Pablo de Olavide - Sevilla, Spain; ^cDepartment of Analytical Chemistry, Universidad de Sevilla, Sevilla, Spain; ^dInstitute of Agriculture and Tourism, Poreč, Croatia; ^eScience and Research Centre Koper, Koper, Slovenia; ^fInstitut des Corps Gras, Pessac, France; ^gUlusal Zeytin ve Zeytinyağı Konseyi, Izmir, Turkey; ^hEurofins Analytik GmbH, Hamburg, Germany; ⁱDipartimento di Scienze e Tecnologie Agro-Alimentari, Alma Mater Studiorum - Università di Bologna, Bologna, Italia

✉Corresponding Author. Piazza Gabriele Goidanich, 47521 Cesena (FC), Italy. Phone: +390547338121
E-mail address: alessandra.bendini@unibo.it


INTRODUZIONE

Lo studio è stato focalizzato sulla caratterizzazione di due Materiali di Riferimento olfattivi artificiali (RMs), somiglianti ai difetti naturali di avvinato-inacetito e rancido, utili in fase di selezione ed addestramento degli assaggiatori e di controllo qualità dei panel che operano nel settore dell'analisi sensoriale degli oli vergini ottenuti dalle olive [1]. Questi nuovi RMs erano formulati aggiungendo specifici composti volatili puri in olio di oliva raffinato, in accordo all'approccio previamente descritto [2]. Il medesimo protocollo analitico è stato condiviso ed applicato dai sei panel coinvolti nel progetto OLEUM e suddiviso dal punto di vista operativo secondo tre obiettivi: i) valutazione della rappresentatività dei RMs per stabilire se questi possano essere considerati adatti per l'uso che se ne intende fare; ii) determinazione del valore d'intensità dello specifico attributo di ogni RM assegnato, secondo la logica del consenso tra i panel (nell'intervallo coperto dalle soluzioni madre e dalle relative diluizioni); iii) valutazione della shelf-life dei RMs controllando possibili variazioni significative dei valori di intensità degli specifici attributi durante una conservazione di 3 e 6 mesi (soluzioni madre e diluizioni).

RISULTATI

I principali risultati in relazione ai tre obiettivi specifici, utili per la caratterizzazione dei RMs, in accordo alla linea guida ISO [3], possono essere così riassunti: i) il 97% e 82% degli assaggiatori giudicavano i

RMs di avvinato-inacetito e rancido, rispettivamente, come rappresentativi dei relative difetti; ii) sono state assegnate le intensità dei difetti (mediane) delle soluzioni madre e delle diluizioni dei due RMs così come dei parametri relativi all'incertezza della misura (es. deviazione standard robusta, coefficiente di variazione robusta %, intervalli di confidenza della mediana al 95%); iii) l'analisi della varianza non ha evidenziato differenze significative tra le intensità dei difetti delle soluzioni madri e delle diluizioni dei RMs quando conservate per 3 e per 6 mesi (al buio e a 10-12°C). La Figura illustra una domanda specifica rivolta agli assaggiatori in relazione agli obiettivi i) e ii).



R6

RANCIDO
RM

X

RANCIDO
CAMPIONE REALE

AV8

AVVINATO-INACETITO
RM

Y

AVVINATO-INACETITO
CAMPIONE REALE

*"Per favore, odora per breve tempo sia RM che il campione reale.
 Il RM può essere considerato utile per mimare l'odore del difetto naturale in modo riproducibile e misurabile?"*

"Se sì, e considerando che i campioni reali hanno un'intensità di avvinato-inacetito di 1,7 (Y) e di rancido di 2,3 (X), qual'è l'intensità di RM?"

Rancido RM	0		10	↕
Avvinato-inacetito RM	0		10	↕

Figura - Domanda specifica rivolta agli assaggiatori in relazione agli obiettivi i) e ii), nello specifico: i) valutazione della rappresentatività dei RMs per stabilire se questi possano essere considerati adatti per l'uso che se ne intende fare; ii) determinazione del valore d'intensità dello specifico attributo di ogni RM, assegnato secondo la logica del consenso tra i panel (nell'intervallo coperto dalle soluzioni madre e dalle relative diluizioni).

BIBLIOGRAFIA

- [1] Guide for the Selection, Training and Quality Control of Virgin Olive Oil Tasters, Qualification of Tasters, Panel Leaders and Trainers. COI/T.20/Doc. No 14/Rev. 7/2021.
- [2] R. Aparicio-Ruiz, S. Barbieri, T. Gallina Toschi, D.L. García-Gonzalez. Formulations of rancid and winey-vinegary artificial olfactory reference materials (AORMs) for virgin olive oil sensory evaluation. *Foods* 9, 1870 (2020).
- [3] Reference materials - Guidance for characterization and assessment of homogeneity and stability. PD ISO GUIDE 35:2017.

Questo abstract è basato sull'articolo pubblicato S. Barbieri, R. Aparicio-Ruiz, K. Brkic-Bubola, M. Bucar-Miklavcic, F. Lacoste, U. Tibet, O. Winkelmann, A. Bendini, D.L. García-Gonzalez, T. Gallina Toschi. Performance testing of new artificial olfactory reference materials in virgin olive oil sensory assessment. International Journal of Gastronomy and Food Science 25, 100402 (2021).

PEER INTER-LABORATORY VALIDATION STUDY OF A HARMONIZED SPME-GC-FID METHOD FOR THE ANALYSIS OF SELECTED VOLATILE COMPOUNDS IN VIRGIN OILS

Enrico CASADEI^a, Enrico VALLI^a, Ramón APARICIO-RUIZ^{b,✉}, Clemente ORTIZ-ROMERO^b, Diego Luis GARCÍA-GONZÁLEZ^b, Stefania VICHI^c, Beatriz QUINTANILLA-CASAS^c, Alba TRES^c, Alessandra BENDINI^a, Tullia GALLINA TOSCHI^a

^aDepartment of Agricultural and Food Sciences, Alma Mater Studiorum – Università di Bologna, Bologna, Italy; ^bInstituto de la Grasa (CSIC), Sevilla, Spain; ^cDepartment de Nutrició, Ciències de L'Alimentació i Gastronomia/INSA-UB, Universitat de Barcelona, Santa Coloma de Gramenet, Spain.

✉Corresponding Author: Phone: +34954611550, E-mail address: aparicioruiz@cica.es.

INTRODUCTION

From a sensory viewpoint, virgin olive oil (VOO) is categorized by positive and negative attributes which are explained by the VOO volatile composition [1, 2]. To date, the evaluation of these sensory attributes is carried out according to the standard method of panel test [3, 4]. This is a lengthy and costly procedure and a non-correct training of the assessors may lead to errors in the VOO classifications. Consequently, the analysis of volatile organic compounds (VOCs) in VOO, mainly by static headspace-solid phase microextraction (HS-SPME) sampling coupled to gas chromatography with flame ionized detector (GC-FID) or gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS), has been proposed as the most adequate approach for the development of instrumental support to sensory panels. Although these methods have been in-house validated, there is a need to evaluate the performance of them in other labs with different instruments. Thus, in particular, the SPME-GC-FID method still needs to be validated in order to evaluate its performance in an inter-laboratory study. With this purpose, a SPME-GC-FID joint protocol developed in the European funded project OLEUM, in which all the variables have been defined and harmonized, has been tested in three laboratories to perform an inter-laboratory validation of the quantification of the most relevant VOCs that are responsible for VOO sensory attributes. The validation study was carried out for each one of the selected molecules in order to have an individual information for each analyte.

Table - Results of the peer-validation study of SPME-GC-FID method for the determination of volatile compounds in VOO headspace. Results are shown as mean values for the quantification strategy that involve the correction of the calibration curves by the internal standard. Further results and details are described by Casadei et al. (2021).

Volatile compounds	LRI ^a	R ^{2b}	RDS% rep. ^c	RSD% repro. ^d	Recovery ^e	LOD ^f	LOQ ^g
Octane	800	0.993	9.4	12.0	88	0.02	0.07
Ethyl acetate	880	0.991	11.8	18.2	90	0.02	0.05
Ethanol	999	0.990	9.9	35.7	110	0.05	0.16
Ethyl propanoate	1028	0.998	15.6	122.0	86	0.02	0.07
Hexanal	1181	0.997	7.1	28.0	91	0.02	0.05
3-methyl-1-butanol	1315	0.998	14.5	23.1	103	0.01	0.03
(E)-2-hexenal	1317	0.975	8.9	30.1	67	0.05	0.15
(Z)-3-hexenyl acetate	1421	0.970	12.7	32.8	50	0.03	0.08
(E)-2-heptenal	1425	0.936	13.7	26.0	83	0.24	0.71
6-methyl-5-hepten-2-one	1441	0.940	11.8	47.8	99	0.01	0.04
1-hexanol	1463	0.995	9.4	48.1	83	0.00	0.01
Nonanal	1495	0.981	13.2	44.2	53	0.02	0.05
1-octen-3-ol	1501	0.984	15.4	37.2	76	0.02	0.08
(E,E)-2,4-hexadienal	1505	0.941	12.8	39.3	87	0.17	0.61
Acetic acid	1552	0.992	6.5	44.8	82	0.04	0.12
Propionic acid	1643	0.985	8.0	21.4	91	0.02	0.08
(E)-2-decenal	1748	0.952	15.4	57.8	160	0.64	1.93
Pentanoic acid	1842	0.967	11.5	29.7	105	0.05	0.14

^a Linear retention index; ^b R-squared regression coefficient of the calibration curves; ^c Relative standard deviation for repeatability; ^d Relative standard deviation for reproducibility, mean values from 15 studied samples; ^e Recovery values expressed as percentage of the quantified value in relation to the actual concentration analyzed (5 mg/kg); ^f Limit of detection; ^g Limit of quantification.

RESULTS

Fifteen VOOs - previously selected to obtain a balance in quality grades from a set of 60 samples - were analyzed by SPME-GC-FID by three laboratories. In particular, quantification of 18 volatile markers responsible for positive attributes (e.g. fruity) and sensory defects was investigated. Three quantification strategies based on the use of calibration curves were considered to evaluate the effect of the internal standard in correcting analytical errors. The results of this peer-validation study (Table) showed relative percentage standard deviations (RSD%) for repeatability lower than 14% except for ethyl propanoate, 3-methyl-1-butanol, 1-octen-3-ol, and (*E*)-2-decenal. The linearity results indicated that all R^2 coefficients were > 0.90 when the internal standard was used to correct the calibration curves. Reproducibility was critical for some compounds for which RSD% values were $> 50\%$. That was the case of ethyl propanoate and (*E*)-2-decenal. The LOQ values were higher than the concentrations of some samples for ethyl propanoate, (*E*)-2-heptenal, 1-octen-3-ol, (*E,E*)-2,4-hexadienal, (*E*)-2-decenal and pentanoic acid. This study was considered as a peer-study prior to a full validation process.

BIBLIOGRAPHY

- [1] M.T. Morales, G. Luna, R. Aparicio, Comparative study of virgin olive oil sensory defects. *Food Chemistry*, 91, 293-301 (2005).
- [2] G. Procida, A. Cichelli, C. Lagazio, L. S. Conte, Relationships between volatile compounds and sensory characteristics in virgin olive oil by analytical and chemometric approaches. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 96, 311-318 (2016).
- [3] International Olive Council (IOC). Sensory analysis of olive oil method for the organoleptic assessment of virgin olive oil. IOOC/T.20/Doc. no. 3 (1987).
- [4] European Commission Regulation. On the characteristics of olive oil and olive residue oil and on the relevant methods of analysis, and subsequent amendments. *Official Journal of European Community*, 11(L248), 1-102, 2568/91 (1991).

This abstract is based on the published article E. Casadei, E. Valli, R. Aparicio-Ruiz, C. Ortiz-Romero, D.L. García-González, S. Vichi, B. Quintanilla-Casas, A. Tres, A. Bendini, T. Gallina Toschi, Peer inter-laboratory validation study of a harmonized SPME-GC-FID method for the analysis of selected volatile compounds in virgin olive oils. Food Control 123, 107823 (2021).

STUDIO DI VALIDAZIONE INTERLABORATORIO DI UN METODO ARMONIZZATO SPME-GC-FID PER L'ANALISI DI SPECIFICI COMPOSTI VOLATILI NEGLI OLI DI OLIVA VERGINI

Enrico CASADEI^a, Enrico VALLI^a, Ramón APARICIO-RUIZ^{b,✉}, Clemente ORTIZ-ROMERO^b, Diego Luis GARCÍA-GONZÁLEZ^b, Stefania VICHI^c, Beatriz QUINTANILLA-CASAS^c, Alba TRES^c, Alessandra BENDINI^a, Tullia GALLINA TOSCHI^a

^aDepartment of Agricultural and Food Sciences, Alma Mater Studiorum – Università di Bologna, Bologna, Italy; ^bInstituto de la Grasa (CSIC), Sevilla, Spain; ^cDepartment de Nutrició, Ciències de L'Alimentació i Gastronomia/INSA-UB, Universitat de Barcelona, Santa Coloma de Gramenet, Spain.

✉Corresponding Author. Phone: +34954611550, E-mail address: aparicioruiz@cica.es.

INTRODUZIONE

Da un punto di vista sensoriale, l'olio di oliva vergine (VOO) viene classificato in una specifica categoria merceologica in funzione di attributi positivi e negativi che sono in relazione alla sua composizione in componenti volatili [1, 2]. Attualmente, la valutazione di questi attributi sensoriali è effettuata attraverso una metodologia ufficiale nota come panel test [3, 4]. Tale procedura è considerata però svantaggiosa in termini di tempo e costo dell'analisi inoltre, un eventuale addestramento non corretto degli assaggiatori del panel, può comportare errori nella classificazione merceologica. Conseguentemente, l'analisi dei composti volatili organici dello spazio di testa (VOCs) degli oli VOO, soprattutto attraverso l'approccio statico con uso della microestrazione in fase solida (HS-SPME) accoppiato a gas cromatografia con rivelatore a ionizzazione di fiamma (GC-FID) o gas cromatografia accoppiata a spettrometria

di massa (GC-MS), è stata proposta come una tecnica adeguata per lo sviluppo di un metodo strumentale a supporto del panel test. Sebbene questi metodi siano stati validati internamente, c'è la necessità di valutare le loro prestazioni quando applicati da altri laboratori che possono avere marche diverse di strumenti. Nello specifico, il metodo SPME-GC-FID necessita ancora di validazione nell'ambito di prove tra laboratori. Per questo scopo, un protocollo condiviso per SPME-GC-FID, sviluppato nell'ambito del progetto Europeo OLEUM, nel quale tutte le variabili sono state definite ed armonizzate, è stato testato in tre laboratori così da sviluppare una validazione relativa alla quantificazione dei VOCs più rilevanti in quanto responsabili degli attributi sensoriali di VOOs. Lo studio di validazione è stato sviluppato per ognuna delle molecole selezionate per ottenere informazioni individuali per ogni analita.

RISULTATI

Quindici VOOs – previamente selezionati da un più ampio set di 60 oli in relazione ad un giusto bilanciamento tra le tre categorie merceologiche – sono stati analizzati mediante il metodo SPME-GC-FID da tre laboratori. In particolare, si è focalizzata l'attenzione sulla quantificazione di 18 molecole volatili, selezionate in quanto responsabili dell'attributo positivo di fruttato e dei principali difetti. Per valutare l'effetto dello standard interno nella correzione di eventuali errori analitici, si sono considerate tre diverse strategie di quantificazione basate sull'uso di curve di calibrazione. I risultati di questa validazione tra laboratori (vedere Tabella relativa) evidenziavano percentuali di deviazione standard relativa (RSD%) per la ripetibilità inferiori a 14% con l'eccezione dell'etil propionato, del 3-metil-1-butanol, 1-octen-3-olo, e della (*E*)-2-decenale. I test di linearità indicavano coefficienti di $R^2 > 0,90$ quando era utilizzato lo standard interno per correggere le curve di calibrazione. La riproducibilità è risultata critica per alcuni composti per i quali i valori di RSD% erano $> 50\%$. Questo era, ad esempio, il caso dell'etil propionato e della (*E*)-2-decenale. I valori di LOQ risultavano più alti delle concentrazioni rilevate in alcuni campioni per l'etil propionato, la (*E*)-2-epitenale, 1-octen-3-olo, la (*E,E*)-2,4-esadienale, la (*E*)-2-decenale e l'acido pentanoico. Questo studio è stato considerato come uno studio di validazione preliminare utile prima dell'applicazione di una validazione estesa a numerosi laboratori esterni.

Tabella - Risultati della validazione condotta da tre laboratori applicando il metodo SPME-GC-FID per la determinazione dei composti volatili dello spazio di testa di oli vergini di oliva. I risultati sono espressi come valori medi applicando la strategia che considera la correzione delle curve di calibrazione attuata mediante standard interno. Ulteriori dettagli sui risultati sono descritti nella relativa pubblicazione Casadei et al. (2021).

Volatiles compounds	LRI ^a	R ^{2b}	RDS% rep. ^c	RSD% repro. ^d	Recovery ^e	LOD ^f	LOQ ^g
Octane	800	0.993	9.4	12.0	88	0.02	0.07
Ethyl acetate	880	0.991	11.8	18.2	90	0.02	0.05
Ethanol	999	0.990	9.9	35.7	110	0.05	0.16
Ethyl propanoate	1028	0.998	15.6	122.0	86	0.02	0.07
Hexanal	1181	0.997	7.1	28.0	91	0.02	0.05
3-methyl-1-butanol	1315	0.998	14.5	23.1	103	0.01	0.03
(<i>E</i>)-2-hexenal	1317	0.975	8.9	30.1	67	0.05	0.15
(<i>Z</i>)-3-hexenyl acetate	1421	0.970	12.7	32.8	50	0.03	0.08
(<i>E</i>)-2-heptenal	1425	0.936	13.7	26.0	83	0.24	0.71
6-methyl-5-hepten-2-one	1441	0.940	11.8	47.8	99	0.01	0.04
1-hexanol	1463	0.995	9.4	48.1	83	0.00	0.01
Nonanal	1495	0.981	13.2	44.2	53	0.02	0.05
1-octen-3-ol	1501	0.984	15.4	37.2	76	0.02	0.08
(<i>E,E</i>)-2,4-hexadienal	1505	0.941	12.8	39.3	87	0.17	0.61
Acetic acid	1552	0.992	6.5	44.8	82	0.04	0.12
Propionic acid	1643	0.985	8.0	21.4	91	0.02	0.08
(<i>E</i>)-2-decenal	1748	0.952	15.4	57.8	160	0.64	1.93
Pentanoic acid	1842	0.967	11.5	29.7	105	0.05	0.14

^a Indice di ritenzione lineare; ^b Coefficienti di regressione (R quadro) delle curve di calibrazione; ^c Deviazioni standard relative per la ripetibilità; ^d Deviazioni standard relative per la riproducibilità, valori medi per 15 campioni; ^e Valori di recupero espressi in percentuali del valore quantificato in relazione alla reale concentrazione analizzata (5 mg/kg); ^f Limiti di rilevazione; ^g Limiti di quantificazione.

BIBLIOGRAFIA

- [1] M. T. Morales, G. Luna, R. Aparicio, Comparative study of virgin olive oil sensory defects. *Food Chemistry*, 91, 293-301 (2005).
- [2] G. Procida, A. Cichelli, C. Lagazio, L. S. Conte, Relationships between volatile compounds and sensory characteristics in virgin olive oil by analytical and chemometric approaches. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 96, 311-318 (2016).
- [3] International Olive Council (IOC). Sensory analysis of olive oil method for the organoleptic assessment of virgin olive oil. IOOC/T.20/Doc. no. 3 (1987).
- [4] European Commission Regulation. On the characteristics of olive oil and olive residue oil and on the relevant methods of analysis, and subsequent amendments. *Official Journal of European Community*, 11(L248), 1-102, 2568/91 (1991).

Questo abstract è basato sull'articolo pubblicato E. Casadei, E. Valli, R. Aparicio-Ruiz, C. Ortiz-Romero, D.L. García-González, S. Vichi, B. Quintanilla-Casas, A. Tres, A. Bendini, T. Gallina Toschi, Peer inter-laboratory validation study of a harmonized SPME-GC-FID method for the analysis of selected volatile compounds in virgin olive oils. Food Control 123, 107823 (2021)

COLLABORATIVE PEER VALIDATION OF A HARMONIZED SPME-GC-MS METHOD FOR ANALYSIS OF SELECTED VOLATILE COMPOUNDS IN VIRGIN OLIVE OILS

Ramón APARICIO-RUIZ^a, Clemente ORTIZ ROMERO^a, Enrico CASADEI^b, Diego L. GARCÍA-GONZÁLEZ^a, Maurizio SERVILI^c, Roberto SELVAGGINI^c, Florence LACOSTE^d, Julien ESCOBESSA^d, Stefania VICHI^e, Beatriz QUINTANILLA-CASAS^e, Pierre-Alain GOLAY^f, Paolo LUCCI^g, Erica MORET^g, Enrico VALLI^{b,✉}, Alessandra BENDINI^b, Tullia GALLINA TOSCHI^b

^aInstituto de la Grasa (CSIC), Sevilla, Spain; ^bDepartment of Agricultural and Food Sciences, Alma Mater Studiorum – Università di Bologna, Bologna, Italy; ^cDepartment of Agricultural, Food and Environmental Sciences, Università degli Studi di Perugia, Perugia, Italy; ^dITERG (Institut des Corps Gras), Canejan, France; ^eDepartment de Nutrició, Ciències de L'Alimentació Gastronomia/INSA-UB, Universitat de Barcelona, Santa Coloma de Gramenet, Spain; ^fNestlé Research Center, Lausanne, Switzerland; ^gDepartment of Agri-Food, Animal and Environmental Science Università degli Studi di Udine, Udine, Italy;

✉Corresponding author: Dr. Enrico Valli, PhD. E-Mail: enrico.valli4@unibo.it.

INTRODUCTION

The evaluation of the sensory attributes in virgin olive oil (VOO) is carried out according to the standard method of panel test [1, 2]. Recently, it has been proposed as SPME-GC-FID method as the most adequate instrumental method to determine volatiles compounds in VOO to support the sensory panels test [3]. This method developed in the European funded project OLEUM, in which all the variables have been defined and harmonized, has been tested in three laboratories to perform an inter-laboratory validation of the quantification of the most relevant VOCs that are responsible for VOO sensory attributes. The validation study was carried out for each one of the selected molecules in order to have an individual information for each analyte. With the same objective, in the present work, five laboratories, all being active partners in the OLEUM project, carried out an inter-lab evaluation of the SPME-GC-MS joint protocol. The validation was carried out by each laboratory following the same analytical conditions and on the same samples, in order to make the results obtained by each laboratory comparable in a harmonized procedure and methodology, as previously done with FID [3].

RESULTS

The SPME-GC-MS method for determination of volatile compounds in virgin olive oil responsible for positive attributes (e.g. fruity) and the main sensory defects had a linearity ($R^2 > 0.94$) and repeatability (mean relative standard deviation, RSD% = 7.60%) satisfactory (Table I). Reproducibility results were uneven depending on the compound. The lowest RSD% values were found for (*Z*)-3-hexenyl acetate (19.19%), 1-hexanol (13.26%), and acetic acid (17.47%). The limits of quantification were < 0.07 mg/kg for all compounds except for (*E*)-2-decenal and pentanoic acid. The study of different quantification methods revealed that the correction of the calibration curves using the internal standard led to a slightly worse repeatability, but better accuracy and reproducibility. This study was considered as a peer-study prior to a full validation process.

BIBLIOGRAPHY

- [1] International Olive Council (IOC). Sensory analysis of olive oil method for the organoleptic assessment of virgin olive oil. IOOC/T.20/Doc. no. 3 (1987).
- [2] European Commission Regulation. On the characteristics of olive oil and olive residue oil and on the relevant methods of analysis, and subsequent amendments. Official Journal of European Community, 11(L248), 1-102, 2568/91 (1991).
- [3] E. Casadei, E. Valli, R. Aparicio-Ruiz, C. Ortiz-Romero, D.L. García-González, S. Vichi, B. Quintanilla-Casas, A. Tres, A. Bendini, T. Gallina Toschi, Peer inter-laboratory validation study of a harmo-

nized SPME-GC-FID method for the analysis of selected volatile compounds in virgin olive oils. Food Control 123, 107823 (2021).

Table I - Linearity expressed as R^2 (mean and standard deviation of the five labs) computed from the calibration curves used in the quantification methods 1 and 2 (QM1, QM2) for the 18 volatile compounds. Repeatability expressed as mean RSD%.

Volatile compounds	Linearity (R^2)		RSD% (Mean \pm SD)		
	QM1	QM2	QM1	QM2	QM3
Octane	0.996 \pm 0.003	0.966 \pm 0.038 ^a	6.77 \pm 4.33 ^c	7.95 \pm 4.11	6.47 \pm 4.91
Ethyl acetate	0.982 \pm 0.023 ^a	0.906 \pm 0.078 ^a	6.99 \pm 3.49	4.77 \pm 0.21	5.75 \pm 4.02
Ethanol	0.984 \pm 0.011 ^a	0.953 \pm 0.047 ^a	9.51 \pm 2.72	6.21 \pm 2.14	6.52 \pm 1.94
Ethyl propanoate	0.994 \pm 0.008	0.939 \pm 0.053 ^a	15.27 \pm 15.87 ^c	15.55 \pm 15.63	15.13 \pm 17.34
Hexanal	0.996 \pm 0.003	0.980 \pm 0.021	5.49 \pm 3.67	4.84 \pm 2.00	4.53 \pm 1.94
3-Methyl-1-butanol	0.996 \pm 0.002	0.941 \pm 0.068	5.09 \pm 1.80	5.63 \pm 2.58	2.88 \pm 2.44
(E)-2-Hexenal	0.990 \pm 0.009 ^b	0.994 \pm 0.007 ^b	4.15 \pm 1.74	2.99 \pm 0.40	2.21 \pm 1.30
(Z)-3-Hexenyl acetate	0.987 \pm 0.012 ^b	0.992 \pm 0.006 ^b	5.23 \pm 0.55 ^e	4.86 \pm 0.84 ^d	3.11 \pm 0.61 ^{ef}
(E)-2-Heptenal	0.976 \pm 0.027 ^b	0.997 \pm 0.001	5.38 \pm 0.76	4.75 \pm 4.23	3.31 \pm 3.61
6-Methyl-5-hepten-2-one	0.975 \pm 0.025 ^b	0.997 \pm 0.001	5.05 \pm 1.17	5.82 \pm 0.89	4.40 \pm 0.07
1-Hexanol	0.993 \pm 0.006	0.992 \pm 0.005	3.89 \pm 1.46	4.12 \pm 0.72 ^f	2.39 \pm 0.34 ^f
Nonanal	0.976 \pm 0.024	0.990 \pm 0.007	11.84 \pm 7.33 ^c	9.89 \pm 3.96	7.36 \pm 9.39
1-Octen-3-ol	0.983 \pm 0.019	0.993 \pm 0.005	6.98 \pm 1.59	5.40 \pm 0.98	5.84 \pm 3.03
(E,E)-2,4-Hexadienal	0.975 \pm 0.027	0.997 \pm 0.002	8.51 \pm 2.99	4.20 \pm 0.72	6.79 \pm 5.13
Acetic acid	0.993 \pm 0.005	0.989 \pm 0.011	7.87 \pm 0.47 ^d	3.48 \pm 2.59 ^d	5.48 \pm 3.09
Propanoic acid	0.983 \pm 0.028 ^b	0.995 \pm 0.005	5.70 \pm 0.19 ^d	2.35 \pm 1.56 ^d	3.32 \pm 2.08
(E)-2-Decenal	0.942 \pm 0.057 ^b	0.966 \pm 0.025 ^b	17.23 \pm 5.08 ^e	12.00 \pm 2.77	13.86 \pm 5.10 ^e
Pentanoic acid	0.969 \pm 0.032 ^b	0.993 \pm 0.008 ^b	5.83 \pm 0.27 ^d	3.17 \pm 0.58 ^d	2.83 \pm 1.86

^a Certain saturation at high concentrations in data provided by some of the involved labs.

^b Certain lower sensitivity (lower slope) at low concentrations in data provided by some of the involved labs.

^c One outlier has been removed (Grubbs test $p < 0.05$).

^d Significant difference ($p < 0.05$) between QM1 and QM2.

^e Significant difference ($p < 0.05$) between QM1 and QM3.

^f Significant difference ($p < 0.05$) between QM2 and QM3.

This abstract is based on the published article R. Aparicio-Ruiz, C. Ortiz Romero, E. Casadei, D.L. García-González, M. Servili, R. Selvaggini, F. Lacoste, J. Escobessa, S. Vichi, B. Quintanilla-Casas, P.A. Golay, P. Lucci, E. Moret, E. Valli, A. Bendini, T. Gallina Toschi, Collaborative peer validation of a harmonized SPME-GC-MS method for analysis of selected volatile compounds in virgin olive oils. Food Control (2022), doi: <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2021.108756>.

INTERVALIDAZIONE DI UN METODO ARMONIZZATO SPME-GC-MS PER L'ANALISI DI COMPOSTI VOLATILI SELEZIONATI IN OLI DI OLIVA VERGINI

Ramón APARICIO-RUIZ^a, Clemente ORTIZ ROMERO^a, Enrico CASADEI^b, Diego L. GARCÍA-GONZÁLEZ^a, Maurizio SERVILI^b, Roberto SELVAGGINI^b, Florence LACOSTE^c, Julien ESCOBESSA^d, Stefania VICHI^d, Beatriz QUINTANILLA-CASAS^d, Pierre-Alain GOLAY^e, Paolo LUCCI^f, Erica MORET^f, Enrico VALLI^g, Alessandra BENDINI^g, Tullia GALLINA TOSCHI^g

^aInstituto de la Grasa (CSIC), Sevilla, Spain; ^bDepartment of Agricultural, Food and Environmental Sciences, Università degli Studi di Perugia, Perugia, Italy; ^cITERG (Institut des Corps Gras), Canejan, France; ^dDepartment de Nutrició, Ciències de L'Alimentació i Gastronomia/INSA-UB, Universitat de Barcelona, Santa Coloma de Gramenet, Spain; ^eNestlé Research Center, Lausanne, Switzerland; ^fDepartment of Agri-Food, Animal and Environmental Science Università degli Studi di Udine, Udine, Italy; ^gDepartment of Agricultural and Food Sciences, Alma Mater Studiorum – Università di Bologna, Bologna, Italy.

✉ Dr. Enrico Valli, PhD. E-Mail: enrico.valli4@unibo.it.

INTRODUZIONE

La valutazione degli attributi sensoriali degli oli di oliva vergini (VOO) è svolta in accordo al metodo ufficiale noto come panel test [1, 2]. Recentemente, il metodo SPME-GC-FID è stato proposto come metodo

strumentale adeguato per supportare la valutazione sensoriale attraverso la determinazione dei composti volatili (VOCs) [3]. Questo metodo, messo a punto nel progetto europeo OLEUM, nel quale tutte le variabili sono state definite ed armonizzate, è stato testato da tre laboratori nell'ambito di una validazione interlaboratorio per quantificare i VOCs maggiormente responsabili degli attributi sensoriali percepibili. Lo studio di validazione è stato applicato ad ognuno dei composti volatili considerati, così da avere un'informazione individuale delle prestazioni ottenibili per ogni analita.

Con il medesimo obiettivo, nel lavoro presente, cinque laboratori partecipanti al progetto OLEUM, hanno sviluppato una valutazione interlaboratorio del protocollo condiviso SPME-GC-MS. Per la validazione, come precedentemente fatto nel caso del metodo con il rivelatore FID, ogni laboratorio ha applicato le stesse procedure analitiche sugli stessi campioni, così da rendere i risultati ottenuti comparabili [3].

RISULTATI

Il metodo SPME-GC-MS, per la determinazione dei VOCs maggiormente responsabili dell'attributo di fruttato e dei principali difetti sensoriali di oli di oliva vergini, ha evidenziato una linearità ($R^2 > 0,94$) ed una ripetibilità (media della deviazione standard relativa, RSD% = 7,60%) soddisfacenti (Tabella).

I risultati della riproducibilità si sono dimostrati essere non dipendenti dal tipo di molecola.

I valori più contenuti di RSD% sono stati registrati per il (Z)-3-esenil acetato (19,19%), l'1-esanolo (13,26%) e l'acido acetico (17,47%). I limiti di quantificazione erano $< 0,07$ mg/kg per tutti i composti eccetto per la (E)-2-decenale e l'acido pentanoico. Lo studio comparativo di diversi metodi di quantificazione ha messo in rilievo come la correzione delle curve di calibrazione usando lo standard interno standard porti ad un risultato leggermente peggiore in termini di ripetibilità ma ad una migliore accuratezza e riproducibilità. Questo studio si può considerare come una intervalidazione preliminare ad un processo di validazione completo.

Tabella I - Linearità espressa come R^2 (media e deviazione standard di cinque laboratori) calcolata dalle curve di calibrazione usate nei metodi di quantificazione 1 e 2 (QM1, QM2) per i 18 composti volatili. Ripetibilità espressa come valore RSD% medio.

Composti volatili	Linearità (R^2)		RSD% (Media \pm SD)		
	QM1	QM2	QM1	QM2	QM3
Ottano	0.996 \pm 0.003	0.966 \pm 0.038 ^a	6.77 \pm 4.33 ^c	7.95 \pm 4.11	6.47 \pm 4.91
Etil acetato	0.982 \pm 0.023 ^a	0.906 \pm 0.078 ^a	6.99 \pm 3.49	4.77 \pm 0.21	5.75 \pm 4.02
Etanolo	0.984 \pm 0.011 ^a	0.953 \pm 0.047 ^a	9.51 \pm 2.72	6.21 \pm 2.14	6.52 \pm 1.94
Etil propanoato	0.994 \pm 0.008	0.939 \pm 0.053 ^a	15.27 \pm 15.87 ^c	15.55 \pm 15.63	15.13 \pm 17.34
Esanale	0.996 \pm 0.003	0.980 \pm 0.021	5.49 \pm 3.67	4.84 \pm 2.00	4.53 \pm 1.94
3-Metil-1-butanolo	0.996 \pm 0.002	0.941 \pm 0.068	5.09 \pm 1.80	5.63 \pm 2.58	2.88 \pm 2.44
(E)-2-Esenale	0.990 \pm 0.009 ^b	0.994 \pm 0.007 ^b	4.15 \pm 1.74	2.99 \pm 0.40	2.21 \pm 1.30
(Z)-3-Esenil acetato	0.987 \pm 0.012 ^b	0.992 \pm 0.006 ^b	5.23 \pm 0.55 ^e	4.86 \pm 0.84 ^d	3.11 \pm 0.61 ^{ef}
(E)-2-Eptenale	0.976 \pm 0.027 ^b	0.997 \pm 0.001	5.38 \pm 0.76	4.75 \pm 4.23	3.31 \pm 3.61
6-Metill-5-epten-2-one	0.975 \pm 0.025 ^b	0.997 \pm 0.001	5.05 \pm 1.17	5.82 \pm 0.89	4.40 \pm 0.07
1-Esanolo	0.993 \pm 0.006	0.992 \pm 0.005	3.89 \pm 1.46	4.12 \pm 0.72 ^f	2.39 \pm 0.34 ^f
Nonanale	0.976 \pm 0.024	0.990 \pm 0.007	11.84 \pm 7.33 ^c	9.89 \pm 3.96	7.36 \pm 9.39
1-Otten-3-olo	0.983 \pm 0.019	0.993 \pm 0.005	6.98 \pm 1.59	5.40 \pm 0.98	5.84 \pm 3.03
(E,E)-2,4-Esadienale	0.975 \pm 0.027	0.997 \pm 0.002	8.51 \pm 2.99	4.20 \pm 0.72	6.79 \pm 5.13
Acido acetico	0.993 \pm 0.005	0.989 \pm 0.011	7.87 \pm 0.47 ^d	3.48 \pm 2.59 ^d	5.48 \pm 3.09
Acido propanoico	0.983 \pm 0.028 ^b	0.995 \pm 0.005	5.70 \pm 0.19 ^d	2.35 \pm 1.56 ^d	3.32 \pm 2.08
(E)-2-Decenale	0.942 \pm 0.057 ^b	0.966 \pm 0.025 ^b	17.23 \pm 5.08 ^e	12.00 \pm 2.77	13.86 \pm 5.10 ^e
Acido pentanoico	0.969 \pm 0.032 ^b	0.993 \pm 0.008 ^b	5.83 \pm 0.27 ^d	3.17 \pm 0.58 ^d	2.83 \pm 1.86

^a Saturazione ad alta concentrazione evidenziata da alcuni laboratori coinvolti. ^b Sensibilità più bassa (pendenza inferiore) a basse concentrazioni evidenziata da alcuni laboratori coinvolti. ^c Un outlier è stato rimosso (Grubbs test $p < 0.05$). ^d Differenza significativa ($p < 0.05$) fra QM1 e QM2. ^e Differenza significativa ($p < 0.05$) fra QM1 e QM3. ^f Differenza significativa ($p < 0.05$) fra QM2 e QM3.

BIBLIOGRAFIA

- [1] International Olive Council (IOC). Sensory analysis of olive oil method for the organoleptic assessment of virgin olive oil. IOOC/T.20/Doc. no. 3 (1987).
- [2] European Commission Regulation. On the characteristics of olive oil and olive residue oil and on the relevant methods of analysis, and subsequent amendments. Official Journal of European Community, 11(L248), 1-102, 2568/91 (1991).

- [3] E. Casadei, E. Valli, R. Aparicio-Ruiz, C. Ortiz-Romero, D.L. García-González, S. Vichi, B. Quintanilla-Casas, A. Tres, A. Bendini, T. Gallina Toschi, Peer inter-laboratory validation study of a harmonized SPME-GC-FID method for the analysis of selected volatile compounds in virgin olive oils. *Food Control* 123, 107823 (2021).

Questo abstract è basato sull'articolo pubblicato R. Aparicio-Ruiz, C. Ortiz Romero, E. Casadei, D.L. García-González, M. Servili, R. Selvaggini, F. Lacoste, J. Escobessa, S. Vichi, B. Quintanilla-Casas, P.A. Golay, P. Lucci, E. Moret, E. Valli, A. Bendini, T. Gallina Toschi, Collaborative peer validation of a harmonized SPME-GC-MS method for analysis of selected volatile compounds in virgin olive oils. Food Control (2022) <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2021.108756>

AN HS-GC-IMS METHOD FOR THE QUALITY CLASSIFICATION OF VIRGIN OLIVE OILS AS SCREENING SUPPORT FOR THE PANEL TEST

Enrico VALLI^a, Filippo PANNI^a, Enrico CASADEI^{a,✉}, Sara BARBIERI^a, Chiara CEVOLI^a, Alessandra BENDINI^a, Diego Luis GARCÍA-GONZÁLEZ^b, Tullia GALLINA TOSCHI^a

^aDepartment of Agricultural and Food Sciences, Alma Mater Studiorum – Università di Bologna, Bologna, Italy; ^bInstituto de la Grasa (CSIC), Sevilla, Spain.

✉Corresponding Author. Piazza Gabriele Goidanich, 47521 Cesena (FC), Italy. Phone: +390547338121
E-mail address: enrico.casadei15@unibo.it

INTRODUCTION

Sensory analysis performed by a specific methodology, the panel test, plays a pivotal role in classification of virgin olive oils (VOOs) [1]. The positive (fruity) and negative (defects) sensory characteristics in VOOs are linked with the presence of volatile molecules that depend on many factors; the identification and quantification of these compounds are of strong relevance to assess the quality of VOOs [2]. The combination of the results obtained from sensory and instrumental analyses can allow rapid screening of samples in the different quality grades, increasing the number of controls and supporting the panel test [3]. For this reason, in recent years, instrumental techniques have been developed based on different principles that emulate the responses of the human nose, tongue, and eyes [4]. In this context, HS-GC-IMS (headspace gas chromatography-ion mobility spectrometry) is an interesting screening tool since this technique can realize a digital fingerprint of the aroma for possible discrimination of samples in a relatively simple, rapid, and cost-effective way [5].

RESULTS

A set of 198 VOO samples were graded into the three quality grades based on sensory analysis and analyzed by HS-GC-IMS. In particular, 15 selected volatile compounds were determined as markers responsible for fruity and sensory defects. The performance of the method was evaluated taken into consideration linearity of the 15 selected markers and intra and inter-day repeatability, calculated on the maximum intensity value of two specific volatile compounds for each quality grade (see Table). Subsequently, the maximum intensity of the areas (monomer and dimer) belonging to the 15 selected volatile compounds in all the analysed oils were chosen and used to develop chemometric models based on partial least squares - discriminant analysis (PLS-DA). A first approach was used to classify the sample according to quality grades, and a second to classify samples according to the presence of defects. The average percentages of correctly classified samples obtained from the two models were satisfactory, namely 77% (prediction of the quality grades) and 64% (prediction of the presence of three defects) in external validation, thus demonstrating that this easy-to-use screening instrumental approach is promising to support the work carried out by panel test.

Table - Intra-day repeatability and inter-day reproducibility expressed as mean relative standard deviation percentage (RSD%) calculated for 2 selected volatile compounds for a sample of each olive oil quality grade, analyzed in 3 replicates in the same day for repeatability and in 3 replicates in 3 different days for reproducibility. Further results and details are described by Valli et al. (2020).

	RSD% ^a		
	EVOO ^b	VOO ^c	LOO ^d
Intra-day repeatability	3.05	1.52	1.39
Inter-day reproducibility	3.90	1.52	2.41

^a Relative standard deviation percentage; ^b Extra virgin olive oil; ^c Virgin olive oil; ^d Lampante olive oil.

BIBLIOGRAPHY

[1] International Olive Council. Sensory Analysis of Olive Oil-Method for the Organoleptic Assessment of Virgin Olive Oil; International Olive Council (IOC): Madrid, Spain, 2018.

- [2] J. F. Cavalli, X. Fernández, L. Lizzani-Cuvelier, A. M. Loiseau. Characterization of volatile compounds of french and spanish virgin olive oil by HS-SPME: Identification of quality-freshness markers. *Food Chemistry*, 88, 151-158 (2004).
- [3] L. Conte, A. Bendini, E. Valli, P. Lucci, S. Moret, A. Maquet, T. Gallina Toschi. Olive oil quality and authenticity: A review of current EU legislation, standards, relevant methods of analyses, their drawbacks and recommendations for the future. *Trends in Food Science and Technology*, 105, 483-493 (2020).
- [4] S. Buratti, C. Malegori, S. Benedetti, P. Oliveri, G. Giovanelli. E-nose, e-tongue and e-eye for edible olive oil characterization and shelf life assessment: A powerful data fusion approach. *Talanta*, 182, 131-141 (2018).
- [5] R. Garrido-Delgado, M. Dobao-Prieto, L. Arce, M. Valcárcel. Determination of volatile compounds by GC-IMS to assign the quality of virgin olive oil. *Food Chemistry*, 187, 72-579 (2015).

This abstract is based on the published article E. Valli, F. Panni, E. Casadei, S. Barbieri, C. Cevoli, A. Bendini, D.L. García-González, T. Gallina Toschi. An HS-GC-IMS Method for the Quality Classification of Virgin Olive Oils as Screening Support for the Panel Test. Foods 9, 657 (2020).

UN METODO HS-GC-IMS PER LA CLASSIFICAZIONE DELLA QUALITÀ DEGLI OLI VERGINI DI OLIVA COME SUPPORTO STRUMENTALE RAPIDO PER IL PANEL TEST

Enrico VALLI^a, Filippo PANNI^a, Enrico CASADEI^{a,✉}, Sara BARBIERI^a, Chiara CEVOLI^a, Alessandra BENDINI^a, Diego Luis GARCÍA-GONZÁLEZ^b, Tullia GALLINA TOSCHI^a

^aDipartimento di Scienze e Tecnologie Agro-Alimentari, Alma Mater Studiorum - Università di Bologna, Bologna, Italia;

^bInstituto de la Grasa (CSIC), Sevilla, Spain.

✉Corresponding Author. Piazza Gabriele Goidanich, 47521 Cesena (FC), Italy. Phone: +390547338121, E-mail address: enrico.casadei15@unibo.it

INTRODUZIONE

L'analisi sensoriale, condotta mediante una specifica metodica nota come panel test, gioca un ruolo fondamentale nella classificazione degli oli vergini di oliva (VOO) [1]. Gli attributi sensoriali positivi (fruttato) e negativi (difetti) dei VOO sono legati alla presenza di molecole volatili che dipendono da molti fattori; l'identificazione e la quantificazione di questi composti sono molto importanti per valutare la qualità dei VOO [2]. La combinazione dei risultati sensoriali con quelli strumentali, può consentire una selezione rapida dei campioni nelle diverse categorie merceologiche, permettendo di incrementare il numero dei controlli e supportando il panel test [3]. Per questo motivo, negli ultimi anni, sono state sviluppate tecniche strumentali basate su diversi principi che emulano le percezioni olfattive, gustative-tattili e visive [4]. In questo contesto, l'analisi dello spazio di testa (HS) tramite GC-IMS (gas cromatografia accoppiata alla spettrometria a mobilità ionica) è uno strumento interessante di selezione poiché questa tecnica può realizzare "un'impronta digitale dell'aroma" e consentire una possibile discriminazione dei campioni in modo relativamente semplice, rapido ed economico [5].

Tabella - Ripetibilità intra-giornaliera e riproducibilità inter-giornaliera, espresse come medie della deviazione standard relativa percentuale (RSD%) e calcolate per 2 composti volatili selezionati per ciascuna delle tre categorie merceologiche di olio vergine di oliva, analizzata in 3 repliche nello stesso giorno per la ripetibilità e in 3 repliche in 3 giorni diversi per la riproducibilità. Ulteriori risultati e dettagli sono descritti nell'articolo Valli et al. (2020).

	RSD% ^a		
	EVOO ^b	VOO ^c	LOO ^d
Intra-day repeatability	3,05	1,52	1,39
Inter-day reproducibility	3,90	1,52	2,41

^a Media della deviazione standard relativa percentuale; ^b Olio extra vergine di oliva; ^c Olio di oliva vergine; ^d Olio di oliva lampante.

RISULTATI

198 campioni di VOO sono stati classificati nelle tre categorie merceologiche mediante analisi sensoriale e analizzati mediante HS-GC-IMS. In particolare, sono stati determinati 15 composti volatili, selezionati come traccianti responsabili del fruttato e di difetti sensoriali. Le prestazioni del metodo sono state valutate prendendo in considerazione la linearità dei 15 composti e la ripetibilità intra e inter-giornaliera, calcolata sul valore massimo di intensità di due specifici composti volatili per ogni categoria merceologica (vedi Tabella).

Successivamente, le intensità massime delle aree (monomero e dimero), relative ai 15 composti volatili selezionati, ricercati negli oli analizzati, è stata utilizzata per sviluppare modelli chemiometrici basati sull'analisi discriminante dei minimi quadrati parziali (PLS-DA). Un primo approccio è stato utilizzato per classificare i campioni in base alla categoria merceologica e un secondo per classificarli in base alla presenza di difetti. Le percentuali medie di campioni correttamente classificati ottenuti dai due modelli sono state soddisfacenti, in quanto pari al 77% (stima della categoria merceologica) e 64% (stima della presenza di tre difetti) in validazione esterna, dimostrando come questo approccio strumentale di selezione rapida possa essere promettente per supportare il panel test.

BIBLIOGRAFIA

- [1] International Olive Council. Sensory Analysis of Olive Oil-Method for the Organoleptic Assessment of Virgin Olive Oil; International Olive Council (IOC): Madrid, Spain, 2018.
- [2] J. F. Cavalli, X. Fernández, L. Lizzani-Cuvelier, A. M. Loiseau. Characterization of volatile compounds of french and spanish virgin olive oil by HS-SPME: Identification of quality-freshness markers. *Food Chemistry*, 88, 151-158 (2004).
- [3] L. Conte, A. Bendini, E. Valli, P. Lucci, S. Moret, A. Maquet, T. Gallina Toschi. Olive oil quality and authenticity: A review of current EU legislation, standards, relevant methods of analyses, their drawbacks and recommendations for the future. *Trends in Food Science and Technology*, 105, 483-493 (2020).
- [4] S. Buratti, C. Malegori, S. Benedetti, P. Oliveri, G. Giovanelli. E-nose, e-tongue and e-eye for edible olive oil characterization and shelf life assessment: A powerful data fusion approach. *Talanta*, 182, 131-141 (2018).
- [5] R. Garrido-Delgado, M. Dobao-Prieto, L. Arce, M. Valcárcel. Determination of volatile compounds by GC-IMS to assign the quality of virgin olive oil. *Food Chemistry*, 187, 72-579 (2015).

Questo abstract è basato sull'articolo pubblicato E. Valli, F. Panni, E. Casadei, S. Barbieri, C. Cevoli, A. Bendini, D.L. Garcia-González, T. Gallina Toschi. An HS-GC-IMS Method for the Quality Classification of Virgin Olive Oils as Screening Support for the Panel Test. Foods 9, 657 (2020).

FLASH GAS CHROMATOGRAPHY IN TANDEM WITH CHEMOMETRICS: A RAPID SCREENING TOOL FOR QUALITY GRADES OF VIRGIN OLIVE OILS

Sara BARBIERI^a, Chiara CEVOLI^a, Alessandra BENDINI^{a,✉}, Beatriz QUINTANILLA-CASAS^{b,c},
Diego Luis GARCIA-GONZALEZ^d, Tullia GALLINA TOSCHI^a

^aDepartment of Agricultural and Food Sciences, Alma Mater Studiorum - Università di Bologna, Bologna, Italy; ^bDepartment de Nutrició, Ciències de l'Alimentació i Gastronomia, Campus De l'Alimentació Torribera, Universitat de Barcelona, Spain; ^cInstitut de Recerca en Nutrició i Seguretat Alimentària (INSA-UB), Universitat de Barcelona (UB), Spain; ^dInstituto de la Grasa (CSIC), Campus Universidad Pablo de Olavide, Sevilla, Spain

✉Corresponding Author: Piazza Gabriele Goidanich, 47521 Cesena (FC), Italy. Phone: +390547338121
E-mail address: alessandra.bendini@unibo.it

INTRODUCTION

The development of an instrumental method for rapid screening of quality grades of samples (extra virgin olive oil, EVOO; virgin olive oil, VOO; lampante olive oil, LOO), as a possible solution to support sensory panels, represents one of the main current challenge for the olive oil sector. The objective of the tool is addressed to the decrease of the daily work of sensory panels thank to the exclusion by assessment of samples definitely compliant for the instrumental classification (e.g. surely EVOOs or LOOs). The main aims are: i) a direct benefit for control laboratories for realizing a quick pre-classification of the quality grades before buying or blending EVOOs; ii) an indirect advantage in terms of higher efficiency of the official control linked to the reducing of the number of samples that need to be controlled by sensory analysis to only borderline oils (samples judged between two product categories, often object of disagreement among panels).

In this work, the flash gas chromatography (FGC) instrumental tool, already applied to discriminate olive oils according to their geographical origin [1], has been proposed as a promising rapid screening method for the determination of olive oil quality grades. This is a fingerprinting approach that permits a very fast analysis of volatile compounds of the sample headspace that, as known [2], are useful markers of flavor and off-flavours. The data analysis based on an untargeted approach avoids the time-consuming steps of identification and quantification of analytes. In this way, raw analytical signals can be directly processed by multivariate classification techniques (e.g. PLS-DA) to develop statistical models able to discriminate samples according to a given quality grade (see the Figure).

277

RESULTS

The fingerprinting approach has been successfully validated in terms of repeatability, reproducibility and sensitivity of signal therefore concerning the reliability of the information collection from samples. A strategy based on sequential PLS-DA models with two categories was applied to the whole set of 331 oils. The best PLS-DA sequential model (LOO vs. no-LOO; VOO vs. EVOO) reported percentages of correctly classified samples ranging from 78 to 92% and from 73 to 85%, for cross and external validation, respectively.

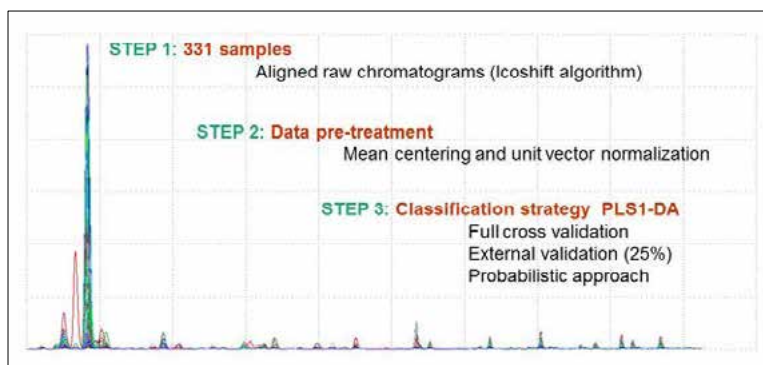


Figure - Scheme of the strategy applied for FGC data elaboration (chromatogram of the headspace volatile fraction obtained in 200 seconds).

BIBLIOGRAPHY

- [1] D. Melucci, A. Bendini, F. Tesini, S. Barbieri, A. Zappi, S. Vichi, L. Conte, T. Gallina Toschi. Rapid direct analysis to discriminate geographic origin of extra virgin olive oils by flash gas chromatography electronic nose and chemometrics. *Food Chem.* 204, 263-273 (2016).
- [2] M.T. Morales, G. Luna, R. Aparicio. Comparative study of virgin olive oil sensory defects. *Food Chem.* 91, 293-301 (2005).

This abstract is based on the published article S. Barbieri, C. Cevoli, A. Bendini, B. Quintanilla-Casas, D.L. Garcia-Gonzalez, T. Gallina Toschi. Flash Gas Chromatography in Tandem with Chemometrics: A Rapid Screening Tool for Quality Grades of Virgin Olive Oils. Foods 9, 862 (2020).

FLASH GAS CROMATOGRAFIA IN ACCOPPIAMENTO CON LA CHEMOMETRIA: UNO STRUMENTO DI VALUTAZIONE RAPIDA PER LA QUALITÀ DEGLI OLI DI OLIVA VERGINI

Sara BARBIERI^a, Chiara CEVOLI^a, Alessandra BENDINI^{a,✉}, Beatriz QUINTANILLA-CASAS^{b,c}, Diego Louis GARCIA-GONZALEZ^d, Tullia GALLINA TOSCHI^a

^aDipartimento di Scienze e tecnologie Agro-Alimentari, Alma Mater Studiorum - Università di Bologna, Bologna, Italy; ^bDepartment de Nutrició, Ciències de l'Alimentació i Gastronomia, Campus De l'Alimentació Torribera, Universitat de Barcelona, Spain; ^cInstitut de Recerca en Nutrició i Seguretat Alimentària (INSA-UB), Universitat de Barcelona (UB), Spain; ^dInstituto de la Grasa (CSIC), Campus Universidad Pablo de Olavide, Sevilla, Spain

✉Corresponding Author: Piazza Gabriele Goidanich, 47521 Cesena (FC), Italy. Phone: +390547338121
E-mail address: alessandra.bendini@unibo.it

INTRODUZIONE

Lo sviluppo di un metodo strumentale per il controllo rapido della categoria merceologica dei campioni (extra vergine di oliva, EVOO; vergine di oliva, VOO; lampante, LOO), come possibile soluzione per supportare i panel sensoriali, rappresenta una delle più importanti ed attuali sfide del settore dell'olio di oliva. La finalità dell'approccio strumentale è indirizzato a diminuire il lavoro giornaliero dei panel sensoriali grazie all'esclusione dalle valutazioni di quei campioni sicuramente conformi per la classificazione strumentale (es. sicuramente EVOOs o LOOs); la conseguenza di ciò è traducibile in: i) un beneficio diretto per i laboratori di controllo delle aziende, grazie ad una pre-classificazione rapida delle categorie merceologiche prima dell'acquisto o della miscelazione di EVOOs ii) un vantaggio indiretto in termini di più elevata efficienza dei controlli ufficiali, in relazione alla riduzione del numero di campioni da sottoporre a controllo con analisi sensoriale, limitabile ai soli oli cosiddetti "borderline" (campioni al limite tra due categorie, spesso oggetto di disaccordo di valutazione tra panel). In questo lavoro, l'applicazione analitica conosciuta come gascromatografia "flash" (FGC), già applicata per discriminare gli oli d'oliva in funzione della loro origine geografica [1], è stata proposta come strumento di valutazione rapida della categoria merceologica degli oli di oliva. Tale approccio è di tipo "fingerprinting" e permette un'analisi estremamente rapida dei composti volatili dello spazio di testa che, come noto [2], sono utili traccianti di note aromatiche positive e negative. L'elaborazione dei dati basata su un approccio "untargeted" riduce il tempo utile all'identificazione e quantificazione degli analiti. In quest'ottica, i segnali grezzi possono essere direttamente processati con metodi di classificazione multivariati (es. PLS-DA) utili allo sviluppo di modelli in grado di discriminare i campioni in base alla specifica categoria merceologica (vedere la relativa Figura).

RISULTATI

L'approccio di tipo fingerprinting è stato validato con successo in termini di ripetibilità, riproducibilità e sensibilità del segnale e, conseguentemente, come affidabilità dell'informazione collezionata dai campioni. All'intero set di 331 oli è stata applicata una strategia basata sullo sviluppo di modelli PLS-DA sequenziali a due categorie. Il miglior modello PLS-DA sequenziale (LOO vs. no-LOO; VOO vs. EVOO)

ha riportato percentuali di campioni correttamente classificati comprese tra 78 e 92% e tra 73 e 85%, rispettivamente in validazione interna ed esterna.

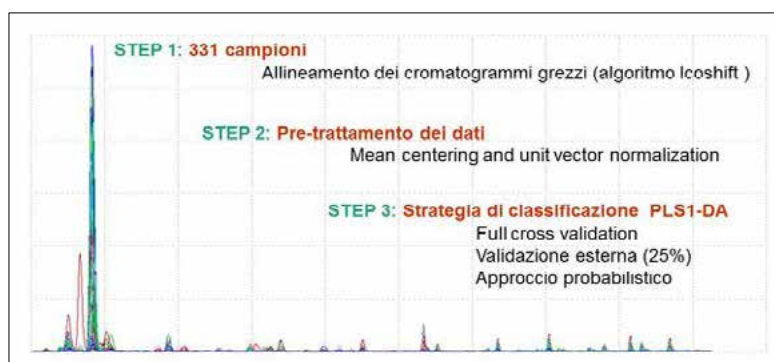


Figura - Schema della strategia applicata per l'elaborazione dei dati FGC (cromatogramma della frazione volatile dello spazio di testa ottenuto in 200 secondi).

BIBLIOGRAFIA

- [1] D. Melucci, A. Bendini, F. Tesini, S. Barbieri, A. Zappi, S. Vichi, L. Conte, T. Gallina Toschi. Rapid direct analysis to discriminate geographic origin of extra virgin olive oils by flash gas chromatography electronic nose and chemometrics. *Food Chem.* 204, 263-273 (2016).
- [2] M.T. Morales, G. Luna, R. Aparicio. Comparative study of virgin olive oil sensory defects. *Food Chem.* 91, 293-301 (2005).

Questo abstract è basato sull'articolo pubblicato S. Barbieri, C. Cevoli, A. Bendini, B. Quintanilla-Casas, D.L. Garcia-Gonzalez, T. Gallina Toschi. Flash Gas Chromatography in Tandem with Chemometrics: A Rapid Screening Tool for Quality Grades of Virgin Olive Oils. Foods 9, 862 (2020).

SUPPORTING THE SENSORY PANEL TO GRADE VIRGIN OLIVE OILS: AN IN-HOUSE-VALIDATED SCREENING TOOL BY VOLATILE FINGERPRINTING AND CHEMOMETRICS

Beatriz QUINTANILLA-CASAS^{a,b}, Marco MARIN^a, Francesc GUARDIOLA^{a,b}, Diego Luis GARCÍA-GONZÁLEZ^c, Sara BARBIERI^d, Alessandra BENDINI^d, Tullia GALLINA TOSCHI^d, Stefania VICH^{a,b,✉}, Alba TRES^{a,b}

^aDepartament de Nutrició, Ciències de l'Alimentació i Gastronomia, Campus de l'Alimentació de Torribera, Universitat de Barcelona (UB), Santa Coloma de Gramenet, Spain; ^bInstitut de Recerca en Nutrició i Seguretat Alimentària (INSA-UB), Universitat de Barcelona (UB), Santa Coloma de Gramenet, Spain; ^cInstituto de la Grasa (CSIC), Sevilla, Spain; ^dDepartment of Agricultural and Food Sciences, Alma Mater Studiorum – Università di Bologna, Bologna, Italy

✉Corresponding Author: Phone: +34934020916, E-mail address: stefaniavichi@ub.edu

INTRODUCTION

The commercial category of virgin olive oil is currently assigned on the basis of physical-chemical and sensory parameters following official methods. Considering the limited number of samples that can be analyzed daily by a sensory panel, an instrumental screening tool could be supportive by reducing the assessors' workload and improving their performance. The goal is to provide a fit-for-purpose tool that could eventually be applied in many laboratories to support the panel test, combining a suitable analytical method with a chemometric approach that is as simple as possible. In a preliminary work [1], a proof of concept for an instrumental screening tool based on virgin olive oil volatile fingerprinting by head space-solid phase micro extraction (HS-SPME) and GC-MS analysis was presented.

This analytical method is known to be simple, relatively fast, automatable, affordable and highly sensitive. Besides, the use of raw chromatographic data, also called fingerprint, increases the amount of information used in modelling overcoming the identification and integration steps.

The present work aims to optimize and in-house validate a screening strategy consisting of two sequential binary partial least squares-discriminant analysis (PLS-DA) models that was suggested to be successful in a proof-of-concept study.

Table - External validation results of the instrumental screening tool (classified correctly and uncertain samples for EVOO (n=24), VOO (n=22) and LOO (n=14) samples) and the final reliable assignment considering the screening tool plus the panel test classification results.

	Instrumental screening tool						Screening tool + reference method ¹	
	Uncertain samples ² (% of total samples)		Samples assigned to a category ³ (% of total samples)		Correctly classified ⁴ (% of assigned samples)		Reliable assignment (%)	
	Mean	SD	Mean	SD	Mean	SD	Mean	SD
EVOO	31.0	7.9	69	7.9	82.3	15.7	87.5	11.3
VOO	26.0	14.4	74.0	14.4	74.6	17.2	80.5	15.5
LOO	6.1	6.4	93.9	6.4	80.5	9.7	83.7	9.9
Total	23.3	7.4	76.7	7.4	78.9⁵	3.83⁵	84.0	4.4

EVOO: extra virgin olive oil, non-EVOO: non-extra virgin olive oil, VOO: virgin olive oil, LOO: lampante olive oil, SD: standard deviation.

¹Considering that the analysis of the uncertain samples by the panel test is a 100 % of correct classification, given that it is the current reference method; ²Samples not assigned to a category by the instrumental screening tool; ³ Samples assigned to a category by the instrumental screening tool; ⁴percentages of correctly classified samples = (samples correctly classified/all classified samples)*100; ⁵Weighted mean and standard deviation.

RESULTS

This approach is based on the volatile fraction fingerprint obtained by HS-SPME-GC-MS from more than 300 virgin olive oils from two crop seasons. Six different sensory panels graded these samples into

extra virgin, virgin or lampante categories. Uncertainty ranges were set for the binary classification models according to sensitivity and specificity by means of receiver operating characteristics (ROC) curves, aiming to identify boundary samples. Thereby, performing the screening approach, only those virgin olive oils classified as uncertain (23.3% of the whole sample set) would be assessed by a sensory panel, while the rest would be directly classified into one of the three commercial categories (78.9% of correct classification). The sensory panel's workload would be reduced to less than one-third of the samples. According to the external validation of the hierarchical classification strategy, a highly reliable classification of samples would be achieved (84.0%) by combining the proposed screening tool with the reference method (panel test) for the assessment of uncertain samples (Table). An in-house validation of the analytical method for fingerprinting approaches was also proposed and performed, providing promising outcomes.

BIBLIOGRAPHY

- [1] B. Quintanilla-Casas, J. Bustamante, F. Guardiola, D.L. García-González, S. Barbieri, A. Bendini, T. Gallina Toschi, S. Vichi, A. Tres, Virgin Olive Oil Volatile Fingerprint and Chemometrics: Towards an Instrumental Screening Tool to Grade the Sensory Quality. *LWT-Food Science and Technology* 121, 108936 (2020).

This abstract is based on the published article B. Quintanilla-Casas, M. Marin, F. Guardiola, D.L. García-González, S. Barbieri, A. Bendini, T. Gallina Toschi, S. Vichi, A. Tres. Supporting the sensory panel to grade virgin olive oils: an in-house-validated screening tool by volatile fingerprinting and chemometrics. Foods 9, 1509 (2020).

SUPPORTO AL PANEL SENSORIALE PER LA CLASSIFICAZIONE DEGLI OLI VERGINI DI OLIVA: UNO STRUMENTO RAPIDO VALIDATO INTERNAMENTE BASATO SULL'ANALISI CHEMIOMETRICA DEL PROFILO IN COMPOSTI VOLATILI

Beatriz QUINTANILLA-CASAS^{a,b}, Marco MARIN^a, Francesc GUARDIOLA^{a,b}, Diego Luis GARCÍA-GONZÁLEZ^c, Sara BARBIERI^d, Alessandra BENDINI^d, Tullia GALLINA TOSCHI^d, Stefania VICH^{1a,b,✉}, Alba TRES^{a,b}

^aDepartament de Nutrició, Ciències de l'Alimentació i Gastronomia, Campus de l'Alimentació de Torribera, Universitat de Barcelona (UB), Santa Coloma de Gramenet, Spain; ^bInstitut de Recerca en Nutrició i Seguretat Alimentària (INSA-UB), Universitat de Barcelona (UB), Santa Coloma de Gramenet, Spain; ^cInstituto de la Grasa (CSIC), Sevilla, Spain; ^dDipartimento di Scienze e Tecnologie Agro-Alimentari, Alma Mater Studiorum – Università di Bologna, Bologna, Italia

✉Corresponding Author: Phone: +34934020916, E-mail address: stefaniavichi@ub.edu

INTRODUZIONE

L'appartenenza di un olio ottenuto dalle olive ad una specifica categoria merceologica è definita sulla base di parametri chimico-fisici e sensoriali, in accordo con i metodi ufficiali. Considerando il numero limitato di campioni che possono essere analizzati quotidianamente da un panel sensoriale, un metodo rapido strumentale potrebbe essere di supporto in quanto ridurrebbe il carico di lavoro degli assaggiatori migliorandone le prestazioni. In tale ottica, l'obiettivo di questo lavoro è fornire uno strumento idoneo che possa essere eventualmente applicato in molti laboratori a supporto del panel test, combinando un metodo analitico adeguato con un approccio chemiometrico il più semplice possibile. In un lavoro preliminare [1], è stata presentata una metodologia rapida strumentale basata sull'impronta digitale della frazione volatile dell'olio vergine di oliva mediante microestrazione in fase solida dello spazio di testa (HS-SPME) ed analisi GC-MS. Questo metodo analitico è noto per essere semplice, relativamente veloce, automatizzabile, economico ed altamente sensibile. Inoltre, l'utilizzo di dati cromatografici grezzi, detti anche "fingerprint", aumenta la quantità di informazioni utilizzate nella modellazione evitando le fasi di identificazione ed integrazione. Visto il successo suggerito dal primo studio previamente citato, il presente lavoro mira a ottimizzare e convalidare internamente una strategia di selezione rapida costituita da due modelli binari sequenziali di analisi discriminante dei minimi quadrati parziali (PLS-DA).

RISULTATI

Questo approccio si basa sull'impronta digitale della frazione volatile analizzata tramite HS-SPME-GC-MS ottenuta da più di 300 oli vergini di oliva campionati nell'ambito di due campagne olearie. Sei diversi panel sensoriali hanno classificato i campioni nelle categorie merceologiche extra vergine, vergine o lampante. Sono stati fissati intervalli di incertezza per i modelli di classificazione binaria in base alla sensibilità ed alla specificità mediante curve ROC (receiver operating characteristics), con l'obiettivo di identificare i campioni al limite tra due categorie. Pertanto, applicando l'approccio di selezione rapida strumentale, solo quegli oli vergini di oliva classificati come incerti (23,3% dell'intero set) verrebbero valutati da un panel sensoriale, mentre il resto dei campioni sarebbe classificato direttamente in una delle tre categorie merceologiche (78,9% di corretta classificazione). Il carico di lavoro del panel sensoriale si ridurrebbe a meno di un terzo dei campioni. Secondo la validazione esterna basata su di una strategia di classificazione gerarchica, si otterrebbe una classificazione dei campioni altamente affidabile (84,0%) combinando lo strumento di selezione rapida con il metodo di riferimento (panel test) per la valutazione dei campioni incerti (Tabella). È stata inoltre proposta ed eseguita una validazione interna del metodo analitico per l'approccio di "fingerprinting", che ha fornito risultati promettenti.

Tabella - Risultati della validazione esterna del metodo di screening strumentale (campioni classificati correttamente ed incerti per EVOO (n=24), VOO (n=22) e LOO (n=14)) ed assegnazione finale affidabile considerando lo strumento di screening più i risultati della classificazione fornita dal panel test.

Metodo di screening strumentale							Metodo di screening + metodo di riferimento ¹	
Campioni incerti ² (% del totale dei campioni)			Campioni assegnati ad una categoria ³ (% del totale dei campioni)		Campioni correttamente classificati ⁴ (% del totale dei campioni)		Classificazione affidabile (%)	
	Media	SD	Media	SD	Media	SD	Media	SD
EVOO	31,0	7,9	69	7,9	82,3	15,7	87,5	11,3
VOO	26,0	14,4	74,0	14,4	74,6	17,2	80,5	15,5
LOO	6,1	6,4	93,9	6,4	80,5	9,7	83,7	9,9
Total	23,3	7,4	76,7	7,4	78,9⁵	3,83⁵	84,0	4,4

EVOO: olio extra vergine di oliva, non EVOO: olio di oliva non extra vergine, VOO: olio di oliva vergine, LOO: olio di oliva lampante, SD: deviazione standard.

¹Considerando che l'analisi dei campioni incerti mediante panel test comporta un 100% di corretta classificazione, dato che è l'attuale metodo di riferimento; ²Campioni non assegnati a una categoria merceologica dal metodo di screening strumentale; ³Campioni assegnati a una categoria dal metodo di screening strumentale; ⁴percentuale di campioni correttamente classificati = (campioni correttamente classificati/tutti i campioni classificati)*100; ⁵ Media pesata e deviazione standard.

BIBLIOGRAFIA

- [1] B. Quintanilla-Casas, J. Bustamante, F. Guardiola, D.L. García-González, S. Barbieri, A. Bendini, T. Gallina Toschi, S. Vichi, A. Tres, Virgin Olive Oil Volatile Fingerprint and Chemometrics: Towards an Instrumental Screening Tool to Grade the Sensory Quality. *LWT-Food Science and Technology* 121, 108936 (2020).

Questo abstract è basato sull'articolo pubblicato B. Quintanilla-Casas, M. Marin, F. Guardiola, D.L. García-González, S. Barbieri, A. Bendini, T. Gallina Toschi, S. Vichi, A. Tres. Supporting the sensory panel to grade virgin olive oils: an in-house-validated screening tool by volatile fingerprinting and chemometrics. Foods 9, 1509 (2020).

ASSESSMENT OF VIRGIN OLIVE OIL STABILITY DURING STORAGE BY ¹H-NMR FINGERPRINTING AND CHEMOMETRICS

Rosa María ALONSO-SALCES^{a,b,✉}, Blanca GALLO^c, Aimaré Ayelén POLIERO^b, Gabriela Elena VIACAVA^{a,b}, Diego Luis GARCÍA-GONZÁLEZ^d, Tullia GALLINA TOSCHI^e, Maurizio SERVILI^f, Luis Ángel BERRUETA^c

^aConsejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), Argentina; ^bUniversidad Nacional de Mar del Plata (UNMdP), Argentina; ^cUniversidad del País Vasco/Euskal Herriko Unibertsitatea (UPV/EHU), Spain; ^dInstituto de la Grasa (CSIC), Spain; ^eDepartment of Agricultural and Food Sciences, Alma Mater Studiorum – Università di Bologna, Bologna, Italy; ^fUniversity of Perugia (UNIPG), Italy. ✉Corresponding Author: Email: rosamaria.alonsosalces@gmail.com

INTRODUCTION

The quality of virgin olive oil (VOO) is related to its oxidative stability, storage, and sensory and nutritional properties. VOO oxidation leads to the formation of off-flavour substances, degradation of its bio-active antioxidants and accumulation of degradation compounds, causing the loss of its sensory and health-promoting qualities, its commercial value and consumer acceptance [1]. VOO resistance to oxidation depends on its chemical composition and its exposure to pro-oxidant factors such as oxygen, light and temperature. VOO stability during storage was studied by an untargeted metabolomics approach based on ¹H-NMR fingerprinting and pattern recognition simulating normal shelf life conditions throughout its commercialization.

RESULTS

A representative set of VOOs covering the full range of possible chemical compositions were exposed to light (500 lux for 12h/day) at 25°C for 12 months or stored in the dark at 25°C, 30°C and 35°C for 24 months. Multivariate data analysis of the ¹H-NMR spectra of the oil samples provided classification models to evaluate VOO freshness (Table I) and to verify the light exposure of the VOO during storage (Table II), as well as regression models to determine VOO storage time (Table III) and tentatively the best before date of a fresh VOO (Table IV).

Table I - PLS-DA models to discriminate between olive oils according to their freshness.¹

PLS-DA model	Data	PLS-comp	Boundary	Class ²	Class code	n	p	%R	%P-CV	%P-EV
K ₂₇₀	All	4	0.6663	non-fresh	0	137	0.22	82	80	
				fresh	1	483	0.78	81	80	100
Total phenol	All	4	0.5261	non-fresh	0	226	0.36	89	85	
				fresh	1	394	0.64	85	82	89
(E,E)-2,4-decadienal	All	5	0.6248	non-fresh	0	175	0.28	90	84	
				fresh	1	445	0.72	83	82	100
K ₂₇₀	Light	5	0.5186	non-fresh	0	104	0.40	96	91	
				fresh	1	156	0.60	90	87	100
Total phenol	Light	4	0.5205	non-fresh	0	103	0.40	87	83	
				fresh	1	157	0.60	88	84	94
(E)-2-decenal	Light	3	0.5720	non-fresh	0	119	0.46	89	85	
				fresh	1	141	0.54	84	84	100
K ₂₇₀	Dark	3	0.6205	non-fresh	0	91	0.24	90	86	
				fresh	1	289	0.76	88	84	100
Total phenol	Dark	2	0.5993	non-fresh	0	126	0.33	89	85	
				fresh	1	254	0.67	83	81	78
(E,E)-2,4-decadienal	Dark	5	0.5718	non-fresh	0	126	0.33	94	86	
				fresh	1	254	0.67	91	89	100

¹Abbreviations: n, number of samples; PLS-comp, number of PLS components selected; p, prior probability; %R, % of recognition ability; %P-CV, % of prediction ability in 3-fold crossvalidation; %P-EV, % of prediction ability in the external validation.

²Freshness criteria: K₂₇₀<0.220 in fresh VOO stored in the light or K₂₇₀<0.190 in fresh VOO in the dark; total phenol content >250 mg/kg in fresh VOO; (E)-2-decenal content <410 µg/kg in fresh VOO (rancid defect threshold); (E,E)-2,4-decadienal content <354 µg/kg in fresh VOO (rancid defect threshold).

Table II - PLS-DA models to discriminate between olive oils according to their exposure to light or dark conditions.¹

PLS-DA model	Data	PLS-comp	Boundary	Class	Class code	n	p	%R	%P
Exposure	All	3	0.5106	dark	0	360	0.58	92	91
				light	1	260	0.42	95	94

¹Abbreviations: n, number of samples; PLS-comp, number of PLS components selected; p, prior probability; %R, % of recognition ability; %P, % of prediction ability; 3-fold crossvalidation.

Table III - PLS-R models to determine the storage time of a VOO kept at 25°C in the light or at different temperatures (25°C, 30°C and 35°C) in the dark.¹

PLS-R model ²	Data ³	n	PLS-comp	R-cal	R-val	RMSEP	Mean of Y _{ref} -Y _{pred}	Confidence interval (95%)
NMR buckets (X) vs time (Y)	Light (0-12 months)	257	6	0.966	0.953	1.1	0.895	0.084
NMR buckets (X) vs time (Y)	Dark, 25°C (0-24 months)	260	5	0.946	0.926	2.8	2.27	0.21
NMR buckets (X) vs time (Y)	Dark, 30°C (0-24 months)	80	4	0.941	0.886	3.8	3.03	0.52
NMR buckets (X) vs time (Y)	Dark, 35°C (0-24 months)	80	5	0.958	0.925	3.1	2.61	0.39

¹Abbreviations: n, number of samples; PLS-comp, number of PLS components; R-cal, correlation coefficient in calibration; R-val, correlation coefficient in validation; RMSEP, root mean square error in the prediction; 3-fold crossvalidation.

²X matrix = normalized intensities of the NRM buckets; Y matrix = storage time (month).

³Samples used to build the model.

Table IV - PLS-R models to determine the best before date of a VOO stored in the light at 25°C.¹

PLS-R model ²	Data ³	n	PLS-comp	R-cal	R-val	RMSEP	Mean of Y _{actual} -Y _{pred}	Confidence interval (95%)
NMR buckets (X) vs time (Y)	Light (time 0)	22	2	0.933	0.841	0.71	0.59	0.18

¹Abbreviations: n, number of samples used to build the model; PLS-comp, number of PLS components; R-cal, correlation coefficient in calibration; R-val, correlation coefficient in validation; RMSEP, root mean square error in the prediction; leave-one-out crossvalidation.

²X matrix = normalized intensities of the NRM buckets; Y matrix = time (month) exceeding the threshold value of K₂₇₀.

³Samples used to build the model.

These predictive models disclosed the chemical compounds responsible for the compositional changes in VOO due to hydrolytic and oxidative degradation taking place during its shelf life. The appearance of ¹H signals of hydroperoxides (primary oxidation products) and the decrease of those signals present in fresh VOO due to phenolic compounds, fatty acids, squalene and native (*E*)-2-hexenal revealed its oxidative degradation. The emergence of low intensity ¹H signals of saturated aldehydes meant that the secondary oxidation process has started at a low rate and yield. The decrease of the ¹H signals of triacylglycerides and *sn*-1,2-diacylglycerides, and the increase of *sn*-1,3-diacylglycerides indicated that hydrolytic degradation and diacylglyceride isomerisation was occurring. However, none of the signals present in the ¹H-NMR spectrum of VOOs at time zero disappeared during VOO storage over one year in the light and two years in the dark. On the one hand, these results corroborated the high oxidative stability of VOO at moderate temperatures, even exposed to light, and dismiss any significant changes which could render its consumption hazardous. On the other hand, this study confirmed that light and increasing temperature enhance VOO degradation during its shelf life. Hence, the use of packaging that protects VOO from light (e.g. dark glass bottles), minimal headspace and the control of temperature during transport, distribution and storage of VOO are highly recommended to guarantee VOO quality from production to consumption.

BIBLIOGRAPHY

- [1] S. Esposto, A. Taticchi, S. Urbani, R. Selvaggini, G. Veneziani, I. Di Maio, B. Sordini, M. Servili, Effect of light exposure on the quality of extra virgin olive oils according to their chemical composition. *Food Chemistry* 229, 726-733 (2017).

This abstract is based on the published article R.M. Alonso-Salces, B. Gallo, M.I. Collado, A. Sasía-Arriba, G.E. Viacava, D.L. García-González, T. Gallina Toschi, M. Servili, L.A. Berrueta, ¹H-NMR fingerprinting and supervised pattern recognition to evaluate the stability of virgin olive oil during storage. Food Control 123, 107831 (2021).

VALUTAZIONE DELLA STABILITÀ DELL'OLIO D'OLIVA VERGINE IN CONSERVAZIONE MEDIANTE PROFILO ¹H-NMR E CHEMIOMETRIA

Rosa María ALONSO-SALCES^{a,b,✉}, Blanca GALLO^c, Aimaré Ayelén POLIERO^b, Gabriela Elena VIACAVA^{a,b}, Diego Luis GARCÍA-GONZÁLEZ^d, Tullia GALLINA TOSCHI^e, Maurizio SERVILI^f, Luis Ángel BERRUETA^c

^aConsejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), Argentina; ^bUniversidad Nacional de Mar del Plata (UNMdP), Argentina; ^cUniversidad del País Vasco/Euskal Herriko Unibertsitatea (UPV/EHU), Spain; ^dInstituto de la Grasa (CSIC), Spain; ^eDipartimento di Scienze e Tecnologie Agro-Alimentari, Alma Mater Studiorum – Università di Bologna, Bologna, Italia; ^fUniversity of Perugia (UNIPG), Italy.

✉Corresponding Author: Email: rosamaria.alonsosalces@gmail.com

INTRODUZIONE

La qualità dell'olio vergine di oliva (VOO) è correlata alle sue proprietà sensoriali e nutrizionali, alla stabilità ossidativa e alla sua conservazione. L'ossidazione del VOO porta alla formazione di sostanze sgradevoli, alla degradazione dei suoi antiossidanti bioattivi e all'accumulo di composti di degradazione, causando la perdita delle sue qualità sensoriali e salutari, del suo valore economico e dell'accettazione da parte dei consumatori [1]. La resistenza del VOO all'ossidazione dipende dalla sua composizione chimica e dalla sua esposizione a fattori pro-ossidanti come ossigeno, luce e temperatura. La stabilità del VOO durante la conservazione è stata studiata mediante un approccio metabolomico non mirato basato sull'impronta digitale ¹H-NMR e sul riconoscimento del modello che simula le normali condizioni di conservazione durante la sua commercializzazione.

RISULTATI

Un set rappresentativo di VOO che copra l'intera gamma di possibili composizioni chimiche è stato esposto alla luce (500 lux per 12 ore/giorno) a 25°C per 12 mesi o conservato al buio a 25°C, 30°C e 35°C per 24 mesi. L'analisi multivariata dei dati ottenuti dagli spettri ¹H-NMR dei campioni di VOO ha fornito modelli di classificazione utili per valutare la freschezza di VOO (Tabella I), per verificarne l'esposizione alla luce durante la conservazione (Tabella II), nonché modelli di regressione per determinare il tempo di conservazione (Tabella III) e provvisoriamente la data di scadenza (Tabella IV).

Tabella I - Modelli PLS-DA per discriminare gli oli di oliva in base alla loro freschezza.¹

Modello PLS-DA	Dati	PLS-comp	Boundary	Class ²	Codice classe	n	p	%R	%P-CV	%P-EV
K ₂₇₀	Tutti	4	0.6663	non-fresco	0	137	0.22	82	80	
				fresco	1	483	0.78	81	80	100
Fenoli totali	Tutti	4	0.5261	non-fresco	0	226	0.36	89	85	
				fresco	1	394	0.64	85	82	89
(E,E)-2,4-decadienale	Tutti	5	0.6248	non-fresco	0	175	0.28	90	84	
				fresco	1	445	0.72	83	82	100
K ₂₇₀	Luce	5	0.5186	non-fresco	0	104	0.40	96	91	
				fresco	1	156	0.60	90	87	100
Fenoli totali	Luce	4	0.5205	non-fresco	0	103	0.40	87	83	
				fresco	1	157	0.60	88	84	94
(E)-2-decenale	Luce	3	0.5720	non-fresco	0	119	0.46	89	85	
				fresco	1	141	0.54	84	84	100
K ₂₇₀	Buio	3	0.6205	non-fresco	0	91	0.24	90	86	
				fresco	1	289	0.76	88	84	100
Fenoli totali	Buio	2	0.5993	non-fresco	0	126	0.33	89	85	
				fresco	1	254	0.67	83	81	78
(E,E)-2,4-decadienale	Buio	5	0.5718	non-fresco	0	126	0.33	94	86	
				fresco	1	254	0.67	91	89	100

¹Abbreviazioni: n, numero di campioni; PLS-comp, numero di componenti PLS selezionati; p, probabilità a priori; %R, % di capacità di riconoscimento; %P-CV, % di capacità di previsione nella validazione incrociata (effettuata 3 volte); %P-EV, % di capacità di previsione nella validazione esterna.

²Criteri di freschezza: K₂₇₀<0,220 in VOO fresco conservato alla luce o K₂₇₀<0,190 in VOO fresco al buio; contenuto totale di fenoli >250 mg/kg in VOO fresco; Contenuto di (E)-2-decenale <410 µg/kg in VOO fresco (soglia del difetto di rancido); contenuto di (E,E)-2,4-decadienale <354 µg/kg in VOO fresco (soglia del difetto di rancido).

Tabella II - Modelli PLS-DA per discriminare gli oli di oliva in base alla loro esposizione a condizioni di luce o buio¹

Modello PLS-DA	Dati	PLS-comp	Boundary	Classe	Codice classe	n	p	%R	%P
Esposizione	Tutti	3	0.5106	buio	0	360	0.58	92	91
				luce	1	260	0.42	95	94

¹Abbreviazioni: n, numero di campioni; PLS-comp, numero di componenti PLS selezionati; p, probabilità a priori; %R, % di capacità di riconoscimento; %P, % di capacità di previsione in validazione incrociata (effettuata 3 volte).

Tabella III - Modelli PLS-R per determinare il tempo di conservazione di un VOO tenuto a 25°C alla luce o a diverse temperature (25°C, 30°C e 35°C) al buio¹

Modello PLS-R ²	Dati ³	n	PLS-comp	R-cal	R-val	RMSEP	Media di Yref-Ypred	Intervallo di confidenza (95%)
NMR buckets (X) vs time (Y)	Luce (0-12 mesi)	257	6	0.966	0.953	1.1	0.895	0.084
NMR buckets (X) vs time (Y)	Buio, 25°C (0-24 mesi)	260	5	0.946	0.926	2.8	2.27	0.21
NMR buckets (X) vs time (Y)	Buio, 30°C (0-24 mesi)	80	4	0.941	0.886	3.8	3.03	0.52
NMR buckets (X) vs time (Y)	Buio, 35°C (0-24 mesi)	80	5	0.958	0.925	3.1	2.61	0.39

¹Abbreviazioni: n, numero di campioni; PLS-comp, numero di componenti PLS; R-cal, coefficiente di correlazione in calibrazione; R-val, coefficiente di correlazione in validazione; RMSEP, errore quadratico medio nella previsione; 3 volte la convalida incrociata.

²Matrice X = intensità normalizzate dei bucket NRM; Matrice Y = tempo di conservazione (mese).

³Campioni utilizzati per costruire il modello.

Tabella IV - Modelli PLS-R per determinare la data di scadenza di un VOO conservato alla luce a 25°C¹

Modello PLS-R ²	Dati ³	n	PLS-comp	R-cal	R-val	RMSEP	Media di Yactual-Ypred	Intervallo di confidenza (95%)
NMR buckets (X) vs time (Y)	Luce (tempo 0)	22	2	0.933	0.841	0.71	0.59	0.18

¹Abbreviazioni: n, numero di campioni utilizzati per costruire il modello; PLS-comp, numero di componenti PLS; R-cal, coefficiente di correlazione in calibrazione; R-val, coefficiente di correlazione in validazione; RMSEP, errore quadratico medio nella previsione; validazione incrociata leave-one-out.

²Matrice X = intensità normalizzate dei bucket NRM; Matrice Y = tempo (mese) superamento del valore di soglia di K₂₇₀.

³Campioni utilizzati per costruire il modello.

Questi modelli predittivi hanno evidenziato i composti responsabili dei cambiamenti nella composizione di VOO dovuti alla degradazione idrolitica e ossidativa che ha luogo durante la sua conservazione. La comparsa di segnali ¹H di idroperossidi (prodotti di ossidazione primari) e la diminuzione di quei segnali presenti nel VOO fresco a causa di composti fenolici, acidi grassi, squalene e (*E*)-2-esenale nativo hanno rivelato la sua degradazione ossidativa. L'emergere di segnali ¹H a bassa intensità di aldeidi saturi ha messo in luce come il processo di ossidazione secondaria iniziasse a bassa velocità e resa. La diminuzione dei segnali ¹H di trigliceridi e *sn*-1,2-digliceridi e l'aumento di *sn*-1,3-digliceridi indicava la degradazione idrolitica e l'isomerizzazione dei diacilgliceroli. Tuttavia, nessuno dei segnali presenti nello spettro ¹H-NMR dei VOO al tempo zero risultava scomparso durante la conservazione per oltre un anno alla luce e due anni al buio. Questi risultati, da un lato, avvalorano l'elevata stabilità ossidativa del VOO a temperature moderate e alla luce, e smentiscono eventuali alterazioni significative che potrebbero rendere pericoloso il suo consumo. D'altra parte, questo studio ha confermato come la luce e l'aumento della temperatura incrementino la degradazione del VOO durante la sua conservazione. Pertanto, l'uso di imballaggi che proteggano i VOO dalla luce (ad es. bottiglie di vetro scuro), lo spazio di testa minimo e il controllo della temperatura durante il trasporto, la distribuzione e lo stoccaggio, sono altamente raccomandati per garantire la qualità dalla produzione al consumo.

BIBLIOGRAFIA

- [1] S. Esposto, A. Taticchi, S. Urbani, R. Selvaggini, G. Veneziani, I. Di Maio, B. Sordini, M. Servili, Effect of light exposure on the quality of extra virgin olive oils according to their chemical composition. *Food Chemistry* 229, 726-733 (2017).

Questo abstract è basato sull'articolo pubblicato R.M. Alonso-Salces, B. Gallo, M.I. Collado, A. Sasía-Arriba, G.E. Viacava, D.L. García-González, T. Gallina Toschi, M. Servili, L.A. Berrueta, ¹H-NMR fingerprinting and supervised pattern recognition to evaluate the stability of virgin olive oil during storage. *Food Control* 123, 107831 (2021).

DESIGN AND IN-HOUSE VALIDATION OF A PORTABLE SYSTEM FOR THE DETERMINATION OF FREE ACIDITY IN VIRGIN OLIVE OIL

Marco GROSSI^{a,✉}, Rosa PALAGANO^b, Alessandra BENDINI^b, Bruno RICCO^a, Maurizio SERVILI^c,
Diego Luis GARCIA GONZALES^d, Tullia GALLINA TOSCHI^b

^aDepartment of Electrical Energy and Information Engineering "Guglielmo Marconi" (DEI), University of Bologna, Bologna, Italy;

^bDepartment of Agricultural and Food Sciences (DISTAL), University of Bologna, Italy; ^cDepartment of Agricultural, Food and Environmental Sciences, University of Perugia, Perugia, Italy; ^dInstituto de la Grasa (CSIC), Sevilla, Spain

✉Correspondence: marco.grossi8@unibo.it; Tel.: +39-051-2093038

INTRODUCTION

Olive oil quality is affected by different factors such as the fruit ripening stage and extraction process, as well as the storage conditions (light and temperature). A number of chemical parameters (free acidity, peroxide value, spectrophotometric indices and fatty acid ethyl esters), as well as sensory attributes, are assessed to determine the quality of olive oil. Free acidity is the first parameter for oil classification, directly related to the quality of olives, and the official method for its determination is a chemical titration that must be carried out in a laboratory by trained personnel. This project is aimed at the development of a novel technique for the determination of olive oil free acidity that can be easily implemented as a portable electronic system for quick and accurate measurements in-the-field by operators without specific training. This allows even the smaller production centers (oil mills and packaging centers) that can not afford an internal laboratory for analysis to carry out free acidity measurements in-situ without the costs and time delays associated with the sample shipping to an external laboratory. The measurement working principle is based on Electrical Impedance Spectroscopy (EIS), a technique where a sinusoidal voltage is applied to the sample under test and its electrical characteristics are measured in a range of frequencies [1]. In this case the sample under test is the emulsion between an hydro-alcoholic solution (ethanol 60%, distilled water 40%) and the olive oil sample. Preliminary investigations have been carried out using a commercial impedance analyzer (Agilent E4980A) in the frequency range 20 Hz - 2 MHz. The results have shown that a correlation exists between the oil free acidity and the emulsion electrical conductance measured at low frequencies (< 10 kHz) [2, 3]. A portable embedded system for in-situ measurements of olive oil free acidity has been designed and built. The instrument has size 11 × 15 × 5 cm and can be powered by USB port or batteries (3 AAA alkaline batteries 1.5 V). The electronic board, based on the microcontroller STM32L152RCT6A by ST Microelectronics, integrates a LCD screen to output the measurement results, four buttons for user interaction and all the electronics for the electrical measurements (electrical conductance measurements at 200 Hz). The emulsion (15 mL of hydro-alcoholic solution and 1 mL of olive oil) is hosted in a 50 mL Falcon vial modified to feature a couple of stainless steel electrodes (diameter 6 mm, spaced by 12 mm) for the electrical measurements. The portable sensor system and the sensor vial are shown in the Figure.

287



Figure - The portable sensor system for olive oil free acidity measurement and the sensor vial used to host the emulsion.

RESULTS

The instrument has been calibrated and the calibration curve stored in the microcontroller memory. The instrument can perform free acidity measurements in about 30 seconds. After calibration, the system has been in-house validated by carrying out measurements on a set of 30 olive oil samples of different origins with free acidity values between 0.18 and 4.5. The accuracy of the system has been evaluated by comparing the instrument output with the results from the official method. A good correlation was found with the official method ($R^2_{adj} = 0.97$) and satisfactory results were obtained in terms of LOD, LOQ, precision and accuracy.

BIBLIOGRAPHY

- [1] M. Grossi, B. Riccò, Electrical impedance spectroscopy (EIS) for biological analysis and food characterization: a review. *Journal of Sensors and Sensor Systems*, 6, 303-325, 2017.
- [2] M. Grossi, G. Di Lecce, T. Gallina Toschi, B. Riccò, Fast and accurate determination of olive oil acidity by electrochemical impedance spectroscopy. *IEEE Sensors Journal*, 14 (9), 2947-2954, 2014.
- [3] M. Grossi, G. Di Lecce, T. Gallina Toschi, B. Riccò, A novel electrochemical method for olive oil acidity determination. *Microelectronics Journal*, 45, 1701-1707, 2014.

This abstract is based on the article M. Grossi, R. Palagano, A. Bendini, B. Riccò, M. Servili, D. L. García-González, T. Gallina Toschi, Design and in-house validation of a portable system for the determination of free acidity in virgin olive oil. Food Control, 104, 208-216, 2019.

PROGETTAZIONE E VALIDAZIONE IN LABORATORIO DI UN SISTEMA PORTATILE PER LA DETERMINAZIONE DELL'ACIDITÀ LIBERA IN OLI DI OLIVA VERGINI

Marco GROSSI^{a,✉}, Rosa PALAGANO^b, Alessandra BENDINI^b, Bruno RICCO^{'a}, Maurizio SERVILI^c,
Diego Luis GARCIA GONZALES^d, Tullia GALLINA TOSCHI^b

^aDipartimento di Ingegneria dell'Energia Elettrica e dell'Informazione "Guglielmo Marconi" (DEI), Alma Mater Studiorum - Università di Bologna, Italia; ^bDipartimento di Scienze e Tecnologie Agro-alimentari (DISTAL), Alma Mater Studiorum - Università di Bologna, Italia; ^cDipartimento di Scienze Agrarie, Alimentari e Ambientali (DSA3), Università degli Studi di Perugia, Italia; ^dInstituto de la Grasa (CSIC), Siviglia, Spagna

✉Corrispondenza: marco.grossi8@unibo.it; Tel.: +39-051-2093038

INTRODUZIONE

La qualità dell'olio di oliva è influenzata da molti fattori, tra cui il processo di estrazione e lo stato di maturazione del frutto, oltre alle condizioni di conservazione. Diversi parametri analitici, insieme all'analisi sensoriale, vengono utilizzati per determinare la categoria merceologica di un olio di oliva vergine. Uno di questi è l'acidità libera e il metodo ufficiale per la sua determinazione è una titolazione che deve essere eseguita in laboratorio da personale specializzato. Lo scopo di questo lavoro sperimentale è lo sviluppo di una tecnica innovativa per la determinazione dell'acidità libera dell'olio di oliva che possa essere facilmente implementata mediante un sistema elettronico portatile per effettuare misure rapide ed accurate direttamente sul campo da parte di personale non specializzato. Questo consente anche alle realtà produttive più piccole (quali frantoi e centri di confezionamento) che non possono permettersi un laboratorio interno per l'analisi di qualità, di effettuare in loco misure di acidità libera senza i costi e i lunghi tempi di attesa derivanti dalla necessità di avvalersi di un laboratorio esterno. Il metodo di misura implementato si basa sulla spettroscopia di impedenza, una tecnica in cui una tensione sinusoidale viene applicata al campione analizzato e le sue caratteristiche elettriche vengono determinate in un certo intervallo di frequenze [1]. In questo caso il campione analizzato è una emulsione tra una soluzione idroalcolica (etanolo-acqua distillata 60:40% v/v) e l'olio di oliva. Una analisi preliminare è stata effettuata utilizzando un misuratore di impedenza commerciale (Agilent E4980A) nell'intervallo di frequenze 20 Hz – 2 MHz. I risultati hanno mostrato l'esistenza di una correlazione tra l'acidità libera del campione di olio di oliva e la conduttanza elettrica dell'emulsione misurata a basse frequenze (< 10 kHz) [2, 3]. Si è quindi passati allo sviluppo e alla costruzione di uno strumento portatile per misurare l'acidità libera dell'olio di oliva. Lo strumento ha dimensioni 11 × 15 × 5 cm e può essere alimentato sia tramite

una porta USB che con batterie (3 batterie alcaline da 1,5 V). La scheda elettronica al suo interno, basata sul microcontrollore STM32L152RCT6A prodotto da ST Microelectronics, integra uno schermo LCD per la visualizzazione dei risultati della misura, quattro tasti per l'interazione con l'utente e tutta l'elettronica necessaria per effettuare le misure elettriche (misure di conduttanza elettrica a 200 Hz). L'emulsione (15 mL di soluzione idroalcolica e 1 mL di olio di oliva) è contenuta all'interno di una provetta Falcon da 50 mL opportunamente modificata con una coppia di elettrodi semisferici in acciaio inox (diametro 6 mm, separati da 12 mm) per la misura delle caratteristiche elettriche. Il sistema portatile e la provetta modificata con elettrodi sono mostrati nella Figura.



Figura - Il sistema portatile per la misura dell'acidità libera in olio di oliva e la provetta modificata con elettrodi per la caratterizzazione dei parametri elettrici dell'emulsione.

RISULTATI

Lo strumento è stato calibrato e le curve di calibrazione memorizzate nella memoria del microcontrollore. Lo strumento permette di effettuare misure di acidità libera su campioni di olio di oliva con tempi di risposta dell'ordine di 30 secondi. Al termine della calibrazione, il sistema è stato validato in laboratorio eseguendo misure su un set di 30 campioni di olio di oliva di origine geografica diversificata, caratterizzati da valori dell'acidità libera compresi tra 0,18 e 4,5. L'accuratezza dello strumento è stata valutata confrontando i risultati dello strumento con quelli dell'acidità libera ottenuta mediante il metodo ufficiale. Si è ottenuta una buona correlazione con il metodo ufficiale ($R^2_{adj} = 0,97$) e risultati soddisfacenti si sono riscontrati per quanto riguarda i parametri LOD, LOQ, precisione e accuratezza.

BIBLIOGRAFIA

- [1] M. Grossi, B. Riccò, Electrical impedance spectroscopy (EIS) for biological analysis and food characterization: a review. *Journal of Sensors and Sensor Systems*, 6, 303-325, 2017.
- [2] M. Grossi, G. Di Lecce, T. Gallina Toschi, B. Riccò, Fast and accurate determination of olive oil acidity by electrochemical impedance spectroscopy. *IEEE Sensors Journal*, 14 (9), 2947-2954, 2014.
- [3] M. Grossi, G. Di Lecce, T. Gallina Toschi, B. Riccò, A novel electrochemical method for olive oil acidity determination. *Microelectronics Journal*, 45, 1701-1707, 2014.

Questo abstract è basato sull'articolo M. Grossi, R. Palagano, A. Bendini, B. Riccò, M. Servili, D. L. García-González, T. Gallina Toschi, Design and in-house validation of a portable system for the determination of free acidity in virgin olive oil. *Food Control*, 104, 208-216, 2019.

IN HOUSE VALIDATED UHPLC PROTOCOL FOR THE DETERMINATION OF THE TOTAL HYDROXYTYROSOL AND TYROSOL CONTENT IN VIRGIN OLIVE OIL FIT FOR THE PURPOSE OF THE HEALTH CLAIM INTRODUCED BY THE EC REGULATION 432/2012 FOR “OLIVE OIL POLYPHENOLS”

Maria Z. TSIMIDOU^{1,✉}, Michaela SOTIROGLOU¹, Aspasia MASTRALEXI¹, Nikolaos NENADIS¹,
Diego L. GARCÍA-GONZÁLEZ², Tullia GALLINA TOSCHI³

¹Laboratory of Food Chemistry and Technology, School of Chemistry, Aristotle University of Thessaloniki (AUTH), Thessaloniki, Greece;

²Instituto de la Grasa (CSIC), Spain; ³Department of Agricultural and Food Sciences, Alma Mater Studiorum-University of Bologna (UNIBO), Italy

✉Corresponding Author: Tel: +30 2310 997796, E-mail: tsimidou@chem.auth.gr

INTRODUCTION

An ongoing challenge in olive oil analytics is the development of a reliable procedure that can draw the consensus of all interested parties regarding the quantification of concentrations above the required minimum value of 5 mg of bioactive “olive oil polyphenols” per 20 g of the oil, to fulfill the health claim introduced by the EC Regulation 432/2012.

The International Olive Council (IOC) had adopted in the past a procedure including a polar fraction (PF) extraction step, a separation protocol, UV detection (280 nm) and a rather ambiguous quantification approach [1].

Soon after the health claim was issued, the IOC recognized the need for the development of a “fit for purpose” method in an open call. Thus, an in-house validated ultra-high performance liquid chromatography (UHPLC) protocol fits for this purpose is proposed relying on quantification of the total hydroxytyrosol (Htyr) and tyrosol (Tyr) content in the virgin olive oil (VOO) polar fraction before and after acidic hydrolysis of their bound forms (see Figure). Analysis of PF before and after hydrolysis provides multiple information. UHPLC expedites phenol separation.

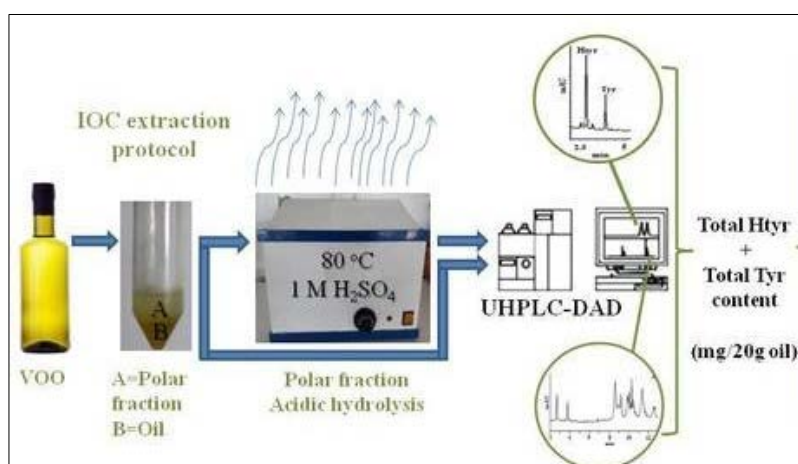


Figure - In-house validated UHPLC protocol fit for the purpose of the health claim in virgin olive.

RESULTS

PF extraction and hydrolysis conditions were as previously reported [2]. The chromatographic run lasts ~1/3 of the time needed under HPLC conditions. Eluent consumption for the same piece of information

was 6-fold less. Apart from being cost effective, a larger number of samples can be analyzed daily with less environmental impact. Two external curves, detection at 280 nm and correction factors for molecular weight difference are proposed.

The method, which is fit for purpose, is selective, robust with satisfactory precision (percentage relative standard deviation (%RSD) values < 11%) and recoveries higher than 87.6% for the target analytes (Htyr, Tyr). Standard operational procedures are easy to apply in the olive oil sector.

REFERENCES

- [1] International Olive Council (IOC). Determination of Biophenols in Olive Oil by HPLC, Method COI/T.20/DOC. 29/Rev. 1 – 2017.
- [2] A. Mastralexi, N. Nenadis, M.Z. Tsimidou Addressing analytical requirements to support health claims on “olive oil polyphenols” (EC regulation 432/2012). *J. Agric. Food Chem.*, 62, 2459-2461 (2014).

*This abstract is based on the published article M.Z. Tsimidou, M. Sotiropoulou, A. Mastralexi, N. Nenadis, D.L. García-González, T. Gallina-Toschi “In house validated UHPLC protocol for the determination of the total hydroxytyrosol and tyrosol content in virgin olive oil fit for the purpose of the health claim introduced by the EC regulation 432/2012 for “olive oil polyphenols”. *Molecules* 24(6), 1044 (2019).*

PROTOCOLLO UHPLC VALIDATO INTERNAMENTE PER LA DETERMINAZIONE DEL CONTENUTO TOTALE DI IDROSSITIROSOLO E TIROSOLO NELL'OLIO DI OLIVA VERGINE IDONEO AI FINI DELLA DICHIARAZIONE DEL CLAIM SALUTISTICO INTRODOTTO DAL REGOLAMENTO CE 432/2012 PER I “POLIFENOLI DA OLIO DI OLIVA”

Maria Z. TSIMIDOU^{1,✉}, Michaela SOTIROGLOU¹, Aspasia MASTRALEXI¹, Nikolaos NENADIS¹, Diego L. GARCÍA-GONZÁLEZ², Tullia GALLINA TOSCHI³

¹Laboratory of Food Chemistry and Technology, School of Chemistry, Aristotle University of Thessaloniki (AUTH), Thessaloniki, Greece..

²Instituto de la Grasa (CSIC), Spain. ³Department of Agricultural and Food Sciences, Alma Mater Studiorum-University of Bologna (UNIBO), Italy.

✉Corresponding Author: Tel: +30 2310 997796, E-mail: tsimidou@chem.auth.gr

291

INTRODUZIONE

Un'attuale sfida analitica nel settore dell'olio di oliva è lo sviluppo di una procedura affidabile e condivisa tra tutti gli interessati in merito al metodo per la quantificazione della concentrazione di molecole fenoliche, in linea a quanto richiesto per soddisfare il claim salutistico che è pari a 5 mg di molecole bioattive “polifenoli dell'olio di oliva” per 20 g di olio (EC Regulation 432/2012).

Il Consiglio Oleicolo Internazionale (IOC) ha adottato nel passato una procedura che includeva una fase di estrazione della frazione polare (PF), un protocollo di separazione HPLC con rivelazione in UV (280 nm) ed un approccio di quantificazione considerato non del tutto esustivo [1].

Dopo l'approvazione del claim salutistico, il COI ha riconosciuto la necessità di sviluppare un metodo utile per tale scopo specifico. Per tale motivo, è stato messo a punto un protocollo in cromatografia liquida di tipo UHPLC, validato internamente, indirizzato in modo specifico alla quantificazione della concentrazione totale di idrossitiroso (Htyr) e tiroso (Tyr) presente nella frazione polare dell'olio vergine di oliva (VOO), prima e dopo idrolisi acida delle forme legate (vedere Figura relativa). L'analisi della PF prima e dopo la procedura idrolitica rende possibile acquisire molteplici informazioni. L'approccio UHPLC è in grado di accelerare la separazione fenolica.

RISULTATI

L'estrazione della frazione polare e le condizioni per l'idrolisi sono state previamente riportate [2]. La corsa cromatografica impiega ~1/3 del tempo necessario rispetto alle condizioni HPLC, il consumo di eluente è stimato essere circa 6 volte inferiore. Il metodo proposto rispetto a quello precedentemente

applicato (COI) permette di analizzare quotidianamente un numero più elevato di campioni con un minore impatto ambientale. Si propone di costruire due curve di calibrazione esterne con rivelatore impostato a 280 nm e fattori di correzione per considerare le differenze di peso molecolare. Il metodo che è stato messo a punto per lo scopo specifico risulta selettivo, robusto, con precisione soddisfacente (valori di percentuale di deviazione standard (%RSD) < 11%), recuperi superiori al 87,6% per gli analiti d'interesse (Htyr, Tyr) e la procedura operativa standard (POS) è di semplice applicazione.

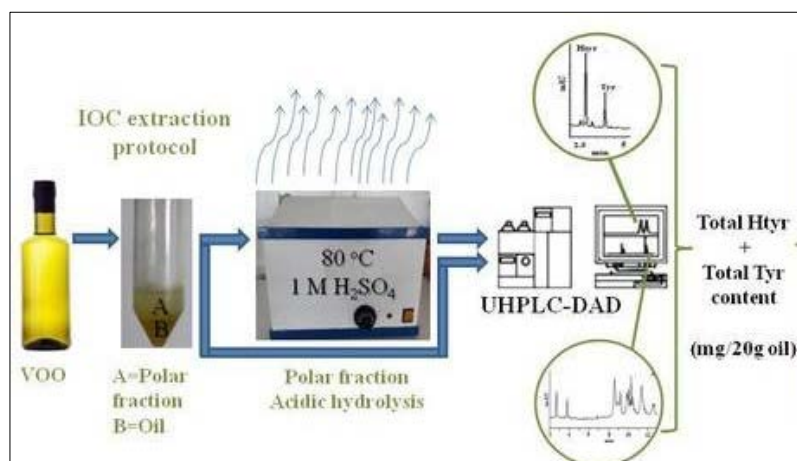


Figura - Protocollo UHPLC validato internamente per la determinazione del contenuto di molecole fenoliche in accordo al claim salutistico per l'olio vergine di oliva.

RIFERIMENTI

- [1] International Olive Council (IOC). Determination of Biophenols in Olive Oil by HPLC, Method COI/T.20/DOC. 29/Rev. 1 – 2017.
- [2] A. Mastralexi, N. Nenadis, M.Z. Tsimidou Addressing analytical requirements to support health claims on “olive oil polyphenols” (EC regulation 432/2012). *J. Agric. Food Chem.*, 62, 2459–2461 (2014).

Questo abstract è basato sull'articolo pubblicato M.Z. Tsimidou, M. Sotiropoulou, A. Mastralexi, N. Nenadis, D.L. García-González, T. Gallina-Toschi “In house validated UHPLC protocol for the determination of the total hydroxytyrosol and tyrosol content in virgin olive oil fit for the purpose of the health claim introduced by the EC regulation 432/2012 for “olive oil polyphenols”. *Molecules* 24(6), 1044 (2019).