

La raccolta olive presso il monastero di Vatopedi in Grecia

LIGNANI E QUALITÀ DEGLI OLI VERGINI D'OLIVA

L'olio di oliva è un componente chiave della Dieta mediterranea e oltre all'ampio e variegato ventaglio di acidi grassi saturi e insaturi contiene anche diversi composti fenolici. Tra questi i lignani, che oltre alle potenzialità terapeutiche si rivelano di estrema utilità per individuare eventuali aggiunte di oli raffinati a quelli vergini e smascherare così le possibili frodi, un problema crescente che interessa la qualità e l'immagine di un prodotto italiano di eccellenza.

* **Valerio Mambretti**
 * **Lorenzo Cecchi**
 * **Nadia Mulinacci**

Ilignani sono una classe di composti fenolici presenti negli oli d'oliva; dopo i secoiridoidi rappresentano la classe più abbondante di composti fenolici, ma, nonostante ciò, sono stati individuati negli oli d'oliva ben 10 anni dopo i secoiridoidi.

A oggi, l'interesse verso questa classe di composti fenolici sta crescendo fortemente, principalmente grazie alla vasta gamma di potenzialità terapeutiche che sono state evidenziate in numerosi lavori scientifici.

Rispetto agli altri composti fenolici tipici degli oli, i lignani si differenziano principalmente per due aspetti:

1) dal punto di vista delle proprietà organolettiche, è stato riportato in letteratura che queste molecole non influenzano in maniera significativa il gusto degli oli d'oliva;

2) dal punto di vista della stabilità chimica e termica, è stato più volte messo in evidenza che i lignani non si degradano con la stessa facilità degli altri composti fenolici. Oltre alle potenzialità terapeutiche, ampiamente discusse e riportate in letteratura, i lignani degli oli d'oliva, in tempi diversi sono stati associati alla qualità degli oli vergini d'oliva:

- nei primi anni 2000 sono stati proposti come marker per l'individuazione di una delle cultivar più diffuse al mondo: la Picual;

- nel 2017 sono venuti alla ribalta grazie a un lavoro che ha messo in luce il loro possibile ruolo come marker di qualità per gli oli vergini di oliva, e in particolare nella lotta alle frodi riguardanti l'aggiunta illecita di oli raffinati a oli extravergini.

In queste pagine l'attenzione sarà focalizzata su questi due aspetti, dando particolare risalto al secondo punto, visto che il tema della lotta alle frodi nel mondo dell'olio d'oliva è di forte interesse in questi anni, tanto che, nell'ambito di Horizon 2020, l'UE ha messo a disposizione importanti risorse

Spagna, mentre a livello mondiale solo il 3% degli oli edibili consumati è costituito da olio di oliva. La produzione mondiale di olio d'oliva corrisponde a circa due milioni di tonnellate, di cui il 50% è prodotto in Spagna. Metà della produzione spagnola è ottenuta da olive della cultivar Picual, e conseguentemente si può stimare che circa il 25% della produzione mondiale derivi da tale varietà (Brenes *et al.*, 2002).

La tabella 1 riporta i contenuti di (+)-1-acetossipinoresinolo e (+)-pinoresinolo in oli di 5 diverse cultivar tipiche del mercato

Cultivar	(+)-1-acetossipinoresinolo	(+)-Pinoresinolo	ISTD/(+)-1-acetossipinoresinolo Rapporto fra le aree
Arbequina	65,6 ± 8,3	37,1 ± 8,3	0,7
Hojiblanca	50,1 ± 8,3	22,9 ± 3,5	1,0
Empeltre	94,2 ± 14,7	21,4 ± 5,4	0,5
Cornicabra	10,2 ± 1,3	41,0 ± 10,2	4,3
Picual	1,9 ± 0,1	43,0 ± 7,8	22,6

Tabella 1. Concentrazione in mg/kg dei lignani (+)-1-acetossipinoresinolo e (+)-pinoresinolo in differenti varietà di olio d'oliva. Nell'ultima colonna è riportato il rapporto fra le aree dello standard interno (acido siringico) e il (+)-1-acetossipinoresinolo.

su questo tema. Non bisogna dimenticare che l'olio è il prodotto alimentare più soggetto a frodi in Italia.

Attualmente è partito OLEUM, un nuovo progetto europeo guidato dall'Università di Bologna e con le Università di Udine e Perugia. Il progetto, finanziato nell'ambito di Horizon 2020, ha l'obiettivo di garantire qualità e autenticità dell'olio d'oliva, coinvolge 20 partner da 15 paesi europei ed extra-europei con un budget di 5 milioni di euro, il più alto mai stanziato in Europa su questa linea di ricerca.

I lignani come marker per l'individuazione di oli da cultivar Picual

A oggi, oltre il 40% della produzione mondiale di olio di oliva è consumata solo in Italia, Grecia e

spagnolo; i dati della tabella, così come altri lavori presenti in letteratura, mostrano che il (+)-1-acetossipinoresinolo è presente in quantità maggiori rispetto al (+)-pinoresinolo in quasi tutte le varietà di olive da olio. Al contrario, nella cultivar Picual la situazione è invertita, e la concentrazione di (+)-1-acetossipinoresinolo è trascurabile rispetto a quella di (+)-pinoresinolo.

In particolare, dalla tabella si nota che la concentrazione di (+)-pinoresinolo in tutte le varietà è compresa nell'intervallo 20-43 mg/kg, mentre quella di (+)-1-acetossipinoresinolo negli oli di varietà Picual è molto più bassa (1,9 mg/kg) rispetto agli altri oli (10,2-94,2 mg/kg). Inoltre, sempre dai dati della tabella si nota che il rapporto fra le aree di standard interno (acido siringico) e (+)-1-acetossi-

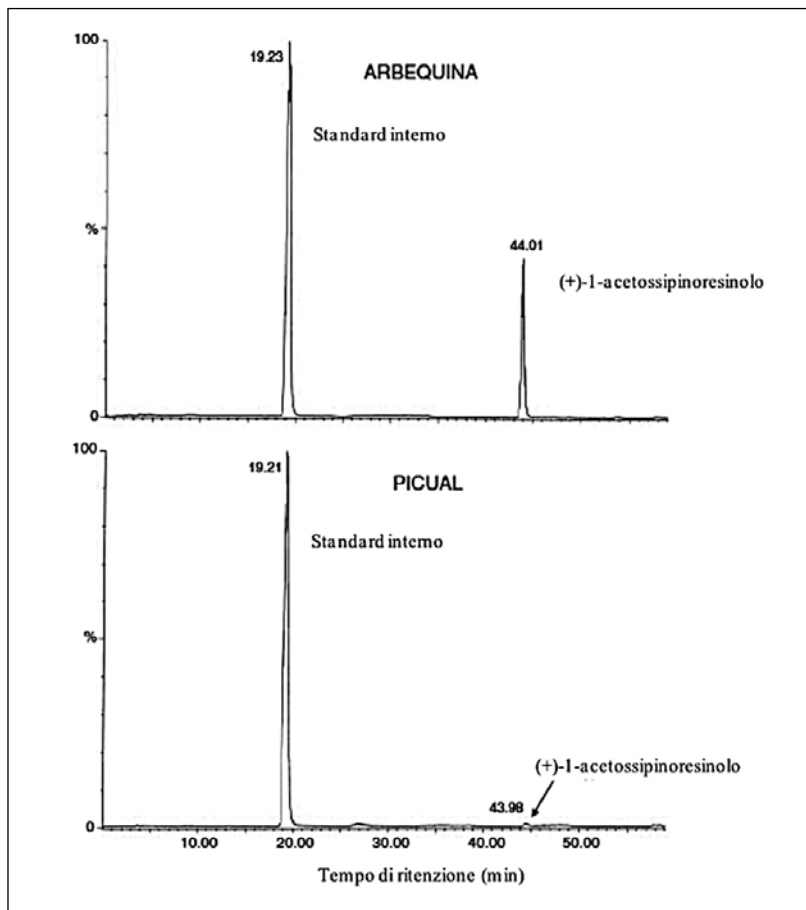


Figura 1. Cromatogrammi estratti sugli ioni m/z 197 per l'acido sirringico (standard interno) e 415 per il (+)-1-acetossipinoresinolo

pinosresinolo rimane dello stesso ordine di grandezza per tutte le cultivar, tranne che per la Picual, per la quale si nota l'aumento di un ordine di grandezza. Tale evidenza è confermata dalla figura 1. Alla luce di queste osservazioni, la concentrazione di (+)-1-acetossipinoresinolo è stata proposta come marker per l'autenticazione di oli di cultivar Picual.

Inoltre, è stato proposto di usare l'HPLC accoppiato al rivelatore a fluorescenza come tecnica di elezione per la determinazione dei lignani negli oli d'oliva, e nel caso specifico nell'olio ottenuto da cultivar Picual. Infatti, la spettrometria di massa è una tecnica analitica troppo laboriosa e costosa per l'analisi di routine dei lignani, mentre il detector UV e quello elettrochimico non sono in grado di rivelare piccole quantità di (+)-1-acetossipinoresinolo.

Lignani da oli d'oliva raffinati per individuare frodi negli oli vergini d'oliva

Gli oli d'oliva sono molto apprezzati sia per le loro caratteristiche sensoriali uniche, sia per le loro

proprietà nutraceutiche, che fanno di essi gli oli alimentari più apprezzati.

Proprio per questo il mercato dell'olio d'oliva è molto attrattivo per i frodatori, tanto che questo prodotto è il più soggetto a frodi in Italia. Le proprietà benefiche dell'olio d'oliva dipendono principalmente dalla sua qualità, e quindi gli oli di più alta qualità hanno anche maggiore valore commerciale ed è necessaria una classificazione merceologica che definisca in maniera chiara questa qualità.

La classificazione merceologica degli oli d'oliva si può ritrovare nel sito del Consiglio Oleicolo Internazionale, (*International Olive Council* o COI). Le denominazioni commerciali sono state stabilite dal COI nella direttiva COIT.15/NC n. 3/Rev. 2 del 24 novembre 2006 e, dall'Unione Europea nella direttiva 136/66/CEE. Come è riportato nella figura 2, dall'estrazione meccanica delle olive si ottengono due tipi di prodotti:

- quelli che derivano dal mosto oleoso, definiti oli vergini di oliva;
- quelli che derivano dalla sansa di oliva vergine, definiti oli di sansa di oliva

Gli oli vergini d'oliva, ottenuti



Figura 2. Classificazione merceologica degli oli d'oliva

OLIO VERGINE DI OLIVA

Gli oli di oliva vergini sono oli ottenuti dal frutto dell'olivo (*Olea europea* L.) unicamente mediante processi fisici o meccanici, in condizioni che non causano alterazioni dell'olio, e che non hanno subito alcun trattamento diverso da lavaggio, decantazione, centrifugazione e filtrazione. Gli oli di oliva vergini, secondo le definizioni del COI, recepite anche dai regolamenti comunitari, sono:

- **Olio extravergine di oliva:** è privo di difetti e la sua acidità libera è inferiore a 0,8%. Ammesso alla vendita.

- **Olio vergine di oliva:** la sua acidità libera è inferiore a 2,0% e le mediane dei difetti inferiori a 3,5. Ammesso alla vendita.

- **Olio di oliva vergine lampante:** la sua acidità libera è superiore a 2,0% e/o le mediane dei difetti sono superiori a 3,5. Non ammesso alla vendita.

La categoria degli oli lampanti viene sottoposta al processo di raffinazione, ottenendo:

- **Olio di oliva raffinato:** è l'olio d'oliva ottenuto da oli d'oliva vergini mediante tecniche di raffinazione che non alterino la struttura glicerica iniziale. La sua acidità libera è inferiore a 0,3%. In Italia non ammesso alla vendita.

In Italia e in altri Paesi l'olio di oliva raffinato può essere ammesso alla vendita solo dopo che è stato **miscelato con altri oli** vergini di oliva, ottenendo un olio classificato come:

- **Olio di oliva:** è una miscela di oli di oliva raffinati e oli di oliva vergini idonei al consumo tal quali.

La sua acidità libera è inferiore a 1,0%. Ammesso alla vendita.

Inoltre, la classificazione comprende anche gli oli che si ottengono per estrazione con solventi dalla sansa.

Olio di sansa di oliva: è l'olio ottenuto mediante trattamento di sansa di oliva con solventi o altri trattamenti fisici, a esclusione di oli ottenuti da processi di riesterificazione e di qualsiasi miscela con oli di altra natura. All'interno di questa categoria troviamo:

- **olio di sansa di oliva greggio:** non ammesso alla vendita;

- **olio di sansa raffinato:** in Italia non è ammesso alla vendita;

- **olio di sansa di oliva:** è costituito da una miscela di oli raffinati di sansa di oliva e oli di oliva vergini.

Ammesso alla vendita.

dal mosto oleoso, potranno essere commestibili nel caso dell'olio vergine di oliva e dell'olio extravergine di oliva, o non commestibili, nel caso dell'olio vergine lampante.

Quest'ultimo non è ammesso al consumo, ma sarà successivamente "rettificato", ovvero subirà dei processi chimici di raffinazione che elimineranno i cattivi odori ed eventuali sapori sgradevoli. Si ottiene così l'olio d'oliva raffinato che ancora non è ammesso al consumo; ma, con l'aggiunta di olio vergine o extravergine, formerà quello identificato con la denominazione di olio d'oliva, che è finalmente ammesso al consumo. Dalla sansa di oliva vergine si ottiene un'altra tipologia di oli. Questi

saranno estratti con solventi dalla sansa vergine e successivamente raffinati e miscelati a olio vergine o extravergine per ottenere l'olio di sansa di oliva, che adesso è commestibile.

I regolamenti *CE 2568/91* e *CE 1989/03* individuano le categorie di oli di oliva in base a diverse caratteristiche, fra cui la loro acidità libera espressa come % di acido oleico e le caratteristiche sensoriali. In particolare, tra gli oli in commercio abbiamo le tipologie riportate nel box.

Composizione chimica dell'olio d'oliva

Dal punto di vista chimico, nell'olio di oliva si distinguono (figura 3):

- una **frazione lipidica**, che a sua volta può essere ulteriormente classificata in base alla possibilità di subire il processo di saponificazione, in:

- **frazione lipidica saponificabile**, che rappresenta circa il 98% del totale dell'olio ed è costituita principalmente da trigliceridi;

- **frazione lipidica insaponificabile**, che costituisce circa il 2%

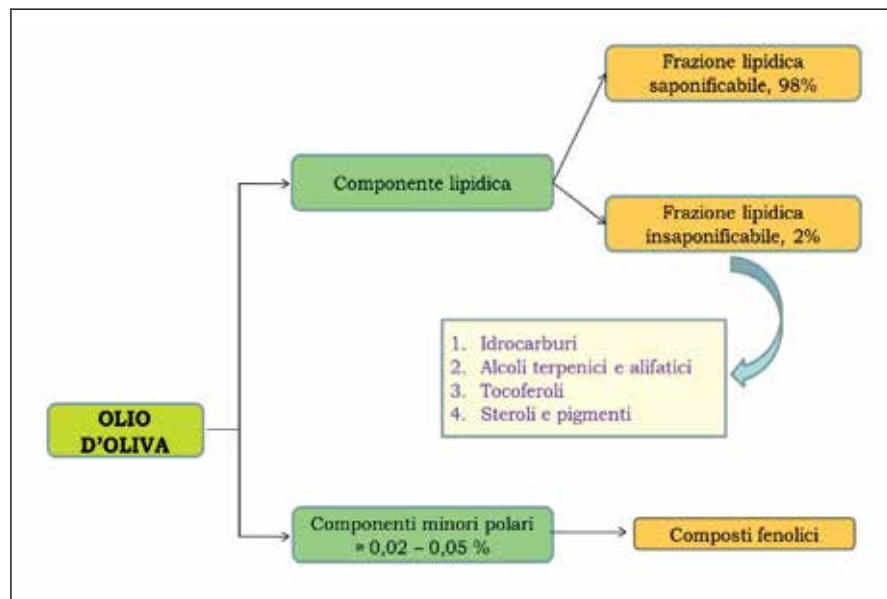


Figura 3. Composizione chimica dell'olio di oliva

dell'olio e comprende numerose sostanze chimiche, come idrocarburi, alcoli alifatici e triterpenici, tocoferoli, steroli e pigmenti;

- composti polari minori, che costituiscono una frazione molto piccola dell'olio e sono rappresentati principalmente dai composti fenolici idrofili, detti più semplicemente composti fenolici; questi rappresentano una delle più importanti classi di composti

presenti negli oli d'oliva. Infatti, anche se sono presenti in quantità esigue (150-900 mg/kg), hanno importanti proprietà nutrizionali, salutistiche e sensoriali e sono i principali antiossidanti dell'olio d'oliva. Includono: secoiridoidi, lignani, alcoli fenolici, acidi fenolici e flavonoidi.

I *secoiridoidi* sono i composti fenolici più abbondanti negli oli e derivano dalle forme naturalmen-

illustrati le principali tipologie di lignani naturali. I lignani presenti negli oli d'oliva rientrano tutti nella categoria dei lignani a struttura furofuranica; i principali sono (+)-1-acetossipinoresinolo e (+)-pinoresinolo, e recentemente sono stati individuati altri due: siringaresinolo e idrossipinoresinolo (figura 5).

La concentrazione dei lignani negli oli può dipendere da molti fattori, fra cui:

- varietà di olive (cultivar);
- area di coltivazione;
- clima;
- tipo di raccolta;
- grado di maturazione, anche se in maniera non significativa;
- eventuale denocciolatura;
- tecniche di produzione;
- trasporto e stoccaggio;

Sembra invece che tempi, temperature e concentrazioni di ossigeno durante la gramolazione non influenzino le concentrazioni finali di lignani negli oli. In alcuni studi è stato anche visto che nell'olio sottoposto a riscaldamento i lignani subiscono perdite minori rispetto ad altri composti fenolici, aspetto da tenere in considerazione soprattutto quando gli oli vengono consumati non crudi ma cotti, fritti o scaldati in altra maniera

Quindi, in base ai fattori sopra descritti, e dalla letteratura disponibile a oggi, si può dire che:

1) i lignani (+)-pinoresinolo e (+)-1-acetossipinoresinolo sono molto più stabili rispetto agli altri composti fenolici, in differenti condizioni di gramolazione, denocciolatura, tempo di stoccaggio, grado di maturazione e stress termico;

2) in base all'alto numero di variabili coinvolte nella produzione di olio, la concentrazione di lignani può variare in maniera considerevole, anche se la cultivar è certamente il fattore più importante.

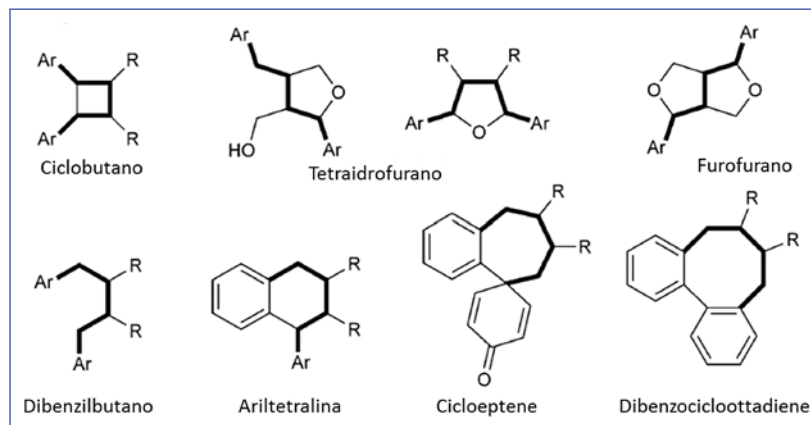


Figura 4. Struttura di base dei lignani naturali con lo scheletro in comune, 1-4 difenil butanico, in grassetto.

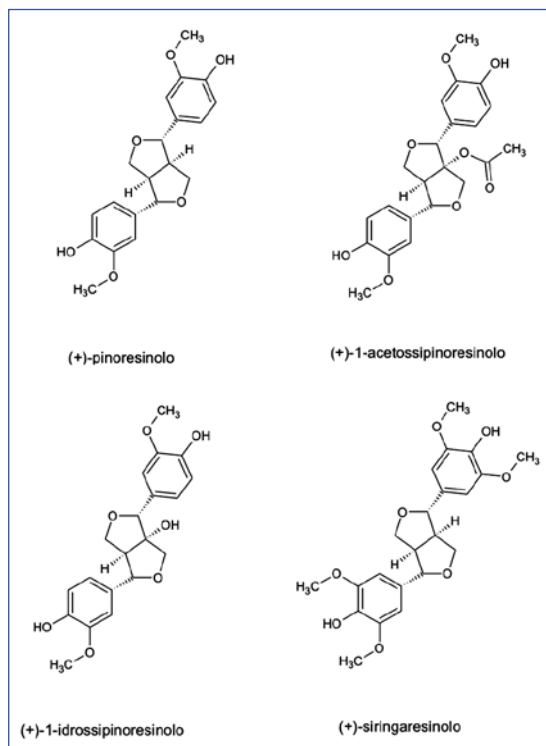


Figura 5. Struttura chimica dei lignani dell'olio vergine di oliva

te presenti nell'oliva; sono esteri del tirosolo e dell'idrossitirosolo con l'acido elenico che si possono trovare in forma glicosilata, legati a una molecola di glucosio, come l'oleuropeina, la demetiloleuropeina e il ligstroside, o in forma agliconica; queste ultime forme, che hanno perso la molecola di glucosio, sono quelle che si ritrovano negli oli e fra essere ricordiamo, per esempio, l'oleocantale.

I *lignani* sono una classe di fenoli ampiamente diffusa in natura. La loro origine rappresenta un eccezionale esempio di complessità molecolare a livello biosintetico: infatti, partendo da pochi semplici fenoli di natura propenilica, le piante producono una grande varietà di molecole, caratterizzate da due anelli fenolici, separati da una struttura a 4 atomi di carbonio. In figura 4 sono

Per esempio, in una recente ricerca sono state evidenziate quantità di lignani fino a 226 mg/kg nella cultivar Arbosana. Di questi, 196 mg/kg erano (+)-1-acetossipinoresinolo. Nella tabella 2 sono riportate le concentrazioni in mg/kg del (+)-pinoresinolo e del (+)-1-acetossipinoresinolo in oli vergini d'oliva, ottenuti da diverse cultivar.

I lignani come marker di qualità per oli vergini d'oliva

Come già accennato, gli oli d'oliva sono molto apprezzati per le loro proprietà sensoriali e salutistiche ampiamente riconosciute dalla comunità scientifica. Grazie a queste proprietà, l'Agenzia Europea per la Sicurezza Alimentare (EFSA) ha approvato nel 2011 un claim salutistico per i composti fenolici degli oli d'oliva, che dà l'opportunità di riportare nelle etichette degli oli d'oliva ricchi di composti fenolici la seguente dicitura: "i composti fenolici degli oli d'oliva contribuiscono a proteggere i lipidi ematici dallo stress ossidativo" (EFSA, 2011).

Tuttavia, questo claim a oggi è legato ai soli secoiridoidi e idrossitirosolo e nulla si dice sul ruolo dei lignani. Il riconoscimento dell'EFSA, unito alle proprietà degli oli vergini d'oliva, contribuisce a rendere il loro prezzo più alto rispetto ad altri oli, come quelli di semi e quelli d'oliva di categorie merceologiche inferiori. Pertanto il mondo degli oli d'oliva è fortemente appetibile per i frodati, e questo riguarda maggiormente gli oli italiani; difatti, il marchio italiano è indice riconosciuto di qualità a livello internazionale (tanto che si parla di "italian sounding"), grazie al variegato patrimonio agroalimentare e alle produzioni tipiche di eccellenza. Ne consegue un'alta vulnerabilità delle nostre produzioni di qualità,

con ripetuti tentativi di imitazione, usurpazione di marchi e vera e propria contraffazione (Corpo Forestale dello Stato, 2016), tanto che Coldiretti stima che il valore della contraffazione del "made in Italy" agroalimentare nel mondo valga quasi il doppio delle esportazioni agroalimentari d'eccellenza. A livello europeo, l'olio d'oliva oggi è riconosciuto come l'alimento più frodato.

In questo contesto si inseriscono le frodi nel settore oleario, fra le quali si riportano:

1) trattamento di oli d'oliva di bassa qualità mediante illeciti processi di raffinazione (vedi sotto) per ottenere oli commercializzati come vergini o extravergini d'oliva;

2) aggiunta di clorofilla a oli d'oliva di bassa qualità;

3) commercializzazione come oli extravergini d'oliva di oli vergini d'oliva provenienti da vecchie campagne olearie ma dichiarati come nuovi;

4) commercializzazione come olio extravergine d'oliva 100% italiano di miscele di oli di differente origine geografica e categoria merceologica;

5) commercializzazione come oli extravergini d'oliva di miscele di oli di semi con oli d'oliva o di miscele di oli extravergini con oli d'oliva di qualità inferiore.

Tale situazione rende evidente la sempre più attuale necessità di avere a disposizione metodi analitici aggiornati adatti a smascherare le principali frodi negli oli d'oliva.

Tale esigenza è avvertita principalmente da:

- i produttori di oli extravergini d'oliva di elevata qualità, che devono vendere il loro prodotto a prezzi elevati per poter sostenere gli elevati costi di produzione;

- i consumatori, che desiderano sapere quello che acquistano e che vogliono avere un prodotto

Cultivar	(+)-pinoresinolo (mg/kg)	(+)-1-acetossipinoresinolo (mg/kg)
Arbequina	2.8 - 46.2	5.1 - 77.3
Brisighella	12.4	23.4
Chemlali Sfax	1.7	6.2
Coratina	8.4	41.1
Cornicabra	4.4 - 74.5	1.2 - 4.9
Empeltre	11.7 - 19.0	31.5 - 40.0
Frantoio	4.2 - 55.1	40.7 - 82.0
Hojiblanca	7.0 - 53.2	3.4 - 78.2
Lechín de Granada	3.5	0.9
Lechín de Sevilla	0.6	26.8
Picual	6.9 - 36	0.2 - 4.9
Picudo	4.5 - 31.2	0.6 - 12.5
Riviera ligure	8.8	27.1
Sariulak	45.3 - 109.3	54.3 - 123.5
Tuscia	8.9	15.7

Tabella 2. Range di valori di concentrazione di (+)-pinoresinolo e (+)-1-acetossipinoresinolo in diverse cvs

corrispondente a quanto riportato in etichetta;

- chi controlla il prodotto, che ha bisogno di metodi analitici veloci ed efficaci per smascherare i nuovi e sempre più sofisticati comportamenti fraudolenti.

Di seguito è descritto un metodo analitico che sfrutta i lignani per identificare le frodi relative al punto 1 e legate al processo di raffinazione schematizzato nella figura 6.

La raffinazione comprende almeno le tre fasi seguenti:

a - deacidificazione, che consiste



Figura 6. Schema generale del processo di raffinazione degli oli lampanti

Fenolo	Olio grezzo	Olio deacidificato	Olio decolorato	Olio deodorato
Idrossitirolo	2,1 ± 0,1*	0,1 ± 0,1	nr	nr
Catecolo	4,1 ± 0,3	0,6 ± 0,1	0,6 ± 0,1	nr
Tirosolo	3,0 ± 0,1	2,6 ± 0,1	2,4 ± 0,1	nr
Idrossitiroil acetato	2,3 ± 0,1	1,8 ± 0,1	0,2 ± 0,1	nr
4-etilfenolo	1,5 ± 0,1	1,4 ± 0,1	1,9 ± 0,2	nr
1-acetossipinoresinolo	8,5 ± 0,1	5,4 ± 0,2	1,2 ± 0,3	1,5 ± 0,2
Pinoresinolo	13,7 ± 0,1	12,0 ± 0,4	2,4 ± 0,1	2,6 ± 0,1
Oleuropeina aglicone	14,7 ± 0,5	nr	nr	nr
Ligstroside aglicone	7,3 ± 1,8	nr	nr	nr
Luteolina	3,1 ± 0,3	nr	nr	nr
Apigenina	1,3 ± 0,1	nr	nr	nr

* Deviazione standard di due analisi; nr, non rilevabile

Tabella 3. Effetto dei vari step del processo di raffinazione sulla concentrazione fenolica di un olio vergine lampante di oliva. Le concentrazioni sono espresse in mg/kg

in una neutralizzazione chimica, e può essere anche suddivisa in due step a diverse temperature. Si ottiene l'olio neutro;

b - decolorazione (bleaching), che sfrutta terre attive a temperature di 90-100 °C e permette di eliminare pigmenti e altre sostanze coloranti. Si ottiene l'olio decolorato;

c - deodorazione, che permette di eliminare le sostanze volatili maleodoranti e di ottenere l'olio raffinato (Garcia *et al.*, 2006).

Nello studio di Garcia *et al.*, 2006, è stato dimostrato che durante la raffinazione si ha completa degradazione dei fenoli presenti nell'olio vergine lampante di oliva. Unica eccezione sono i lignani pinoresinolo e acetossipinoresinolo; infatti, come mostra la tabella 3, la loro quantità diminuisce molto, ma non scompaiono completamente come gli altri fenoli.

I dati riportati in tabella mostrano anche che la diminuzione del contenuto di lignani si ha principalmente dopo il processo di decolorazione. Invece, nel successivo passaggio di deodorazione non si ha diminuzione del contenuto di lignani.

Di seguito si descrive un metodo analitico recentemente pubblicato (Cecchi *et al.*, 2017) che sfrutta i lignani dell'olio raffinato per identificare frodi nell'olio extra vergine di oliva.

I lignani nella lotta alle frodi

Nel lavoro di Cecchi *et al.* (2017) sono stati individuati nuovi lignani strutturalmente simili a (+)-pinoresinolo e (+)-1-acetossipinoresinolo, e in particolare due diastereoisomeri del (+)-1-acetossipinoresinolo e uno del (+)-pinoresinolo, come mostrato nella figura 7.

All'inizio dello studio sono stati analizzati alcuni oli commerciali della categoria olio d'oliva, al fine di indagare la loro composizione fenolica.

Vista la presenza di olio vergine

di oliva all'interno dell'olio d'oliva, il gruppo di lavoro si aspettava un profilo fenolico ricco di diverse molecole in tutti gli oli analizzati. La figura 8 mostra i profili cromatografici di tre degli oli analizzati. In particolare, la figura mette in evidenza:

- per l'olio d'oliva 1 un profilo cromatografico complesso, come atteso;

- per l'olio d'oliva 2, un profilo cromatografico privo di picchi relativi a composti fenolici;

- per l'olio d'oliva 3, la presenza di soli 4 picchi nel range tipico dei composti fenolici.

I 4 picchi dell'olio d'oliva 3 sono stati ulteriormente indagati mediante spettrometria di massa. Il primo picco è stato riconosciuto come (+)-pinoresinolo, il secondo come un suo isomero, il terzo come (+)-1-acetossipinoresinolo e il quarto come un suo isomero. I due isomeri non erano mai stati individuati negli oli vergini d'oliva, per cui gli autori hanno ipotizzato che la loro presenza negli oli d'oliva potesse essere dovuta al contributo dell'olio raffinato presente negli oli d'oliva. Per

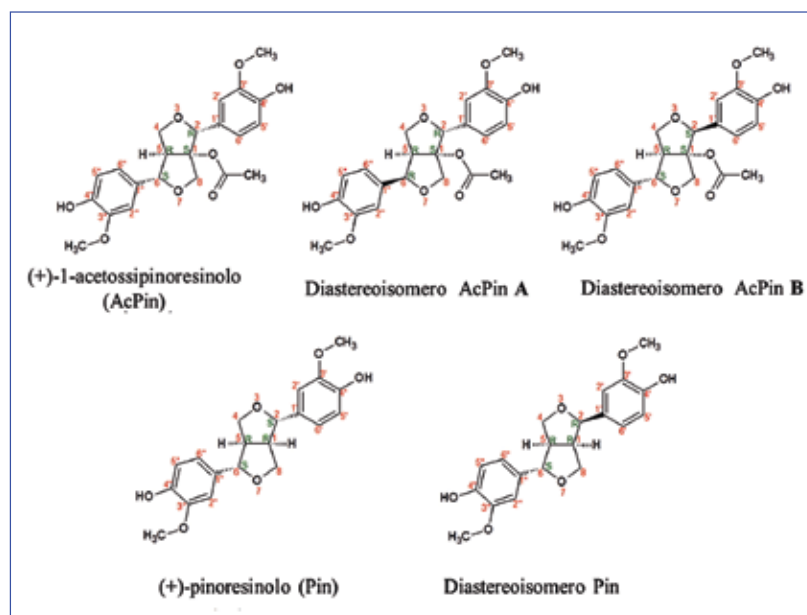


Figura 7 Struttura chimica dei nuovi lignani identificati

confermare questa ipotesi, hanno analizzato oli di origine tunisina parzialmente e totalmente raffinati, ottenuti dopo ognuno degli step del processo di raffinazione industriale descritti in precedenza; in particolare sono stati analizzati: i) olio lampante grezzo (L_{TUN}), ii) olio deacidificato (N_{TUN}), iii) olio decolorato (D_{TUN}) e iv) olio raffinato (R_{TUN}).

L'analisi cromatografica si è focalizzata sulla ricerca dei lignani, utilizzando come rivelatore uno spettrometro di massa e sfruttando la tecnica dell'extract ion chromatogram, che permette di ricercare all'interno di un cromatogramma le molecole con un determinato peso molecolare; in questo modo hanno selezionato i rapporti m/z relativi al (+)-pinoresinolo (357,13 Th) e al (+)-1-acetossipinoresinolo (415,14 Th), che sono anche gli stessi dei loro isomeri.

La figura 9 (A-D) mostra i cromatogrammi ottenuti dagli extract ion applicati ai quattro oli tunisini. In particolare si osserva che:

- **Figura 9A.** Nell'olio lampante grezzo si nota la presenza di un solo picco per il (+)-pinoresinolo e uno per il (+)-1-acetossipinoresinolo.

- **Figura 9B.** Nell'olio deacidificato non si notano differenze rispetto a quello lampante grezzo.

- **Figura 9C.** Nell'olio decolorato la situazione cambia: si notano due picchi nel cromatogramma a 357.13 Th, corrispondenti al (+)-pinoresinolo e al suo isomero e tre picchi nel cromatogramma a 415.14 Th, corrispondenti al (+)-1-acetossipinoresinolo e ai suoi isomeri. Inoltre l'intensità dei picchi dei lignani originali è notevolmente diminuita.

- **Figura 9D.** Nell'olio raffinato la situazione è analoga a quella vista per l'olio decolorato.

Queste osservazioni hanno permesso di confermare che la presenza

di isomeri dei lignani naturali negli oli d'oliva è dovuta alla presenza di oli raffinati; inoltre, hanno permesso di capire che queste nuove molecole si formano durante lo step di decolorazio-

ne del processo di raffinazione. Queste conclusioni sono state poi confermate analizzando ulteriori due serie di oli di origine italiana e spagnola. La struttura chimica degli isomeri, riportata in figura 7

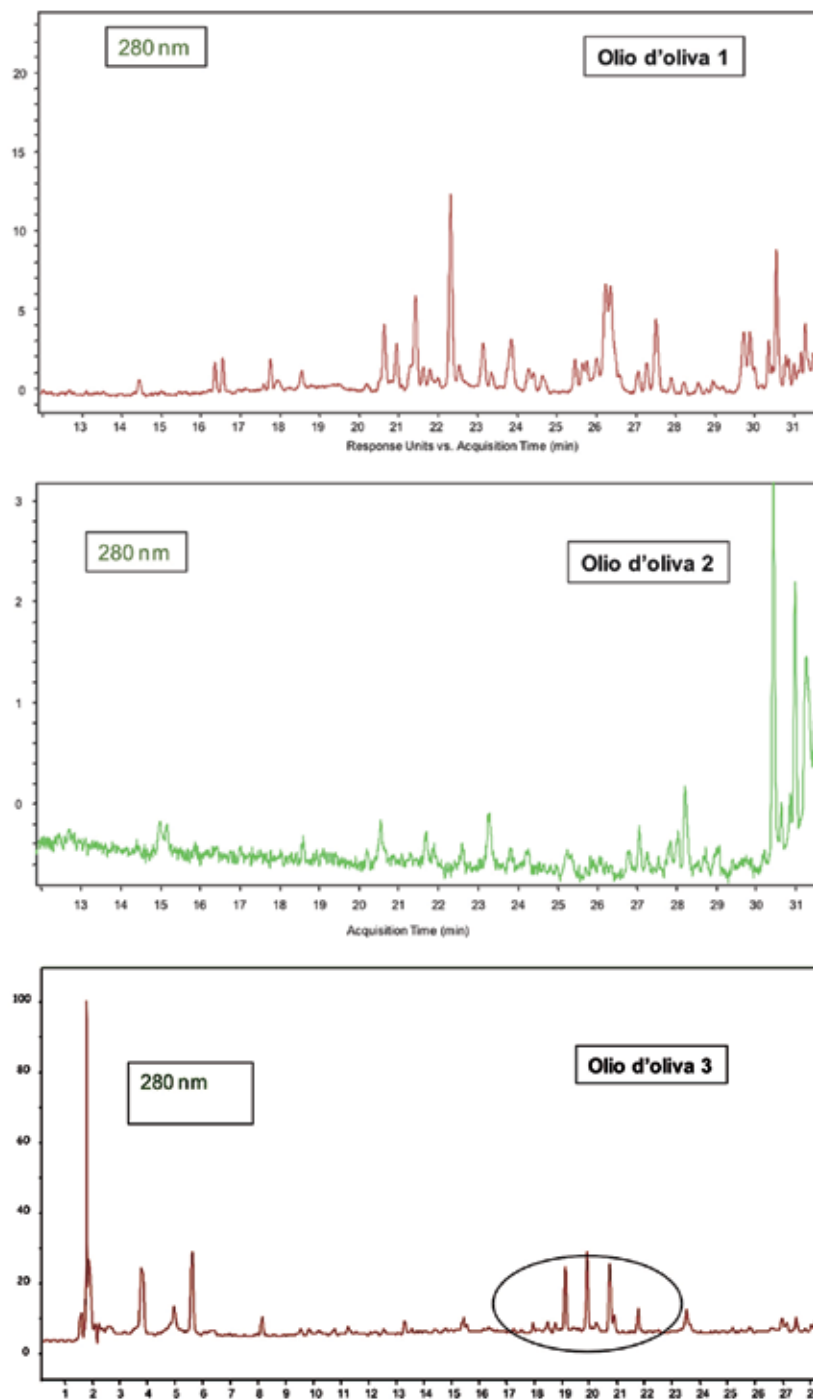


Figura 8. Profili cromatografici di alcuni oli d'oliva commerciali

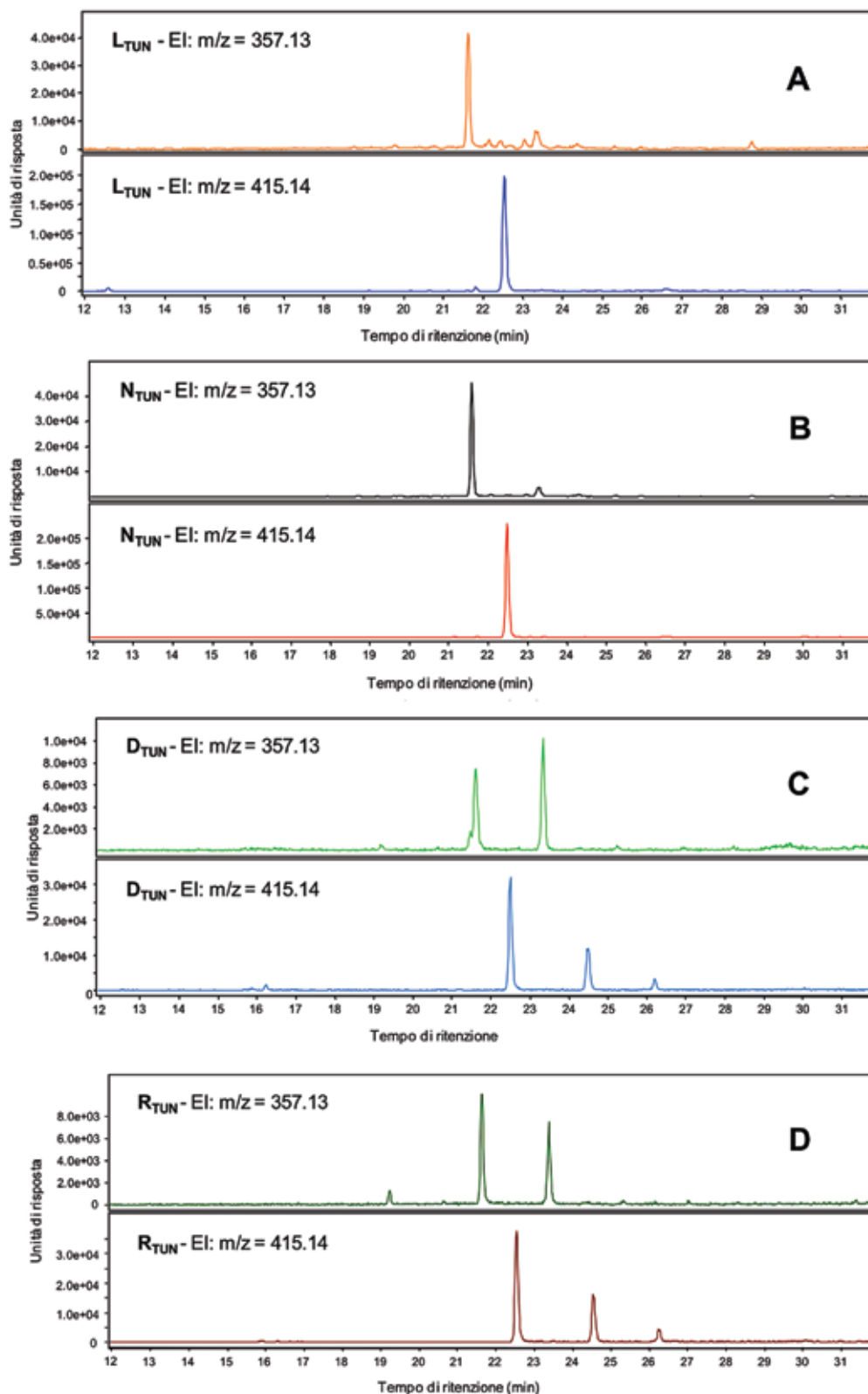


Figura 9. Confronti fra gli "extract ion profiles" a 357.13 Th e 415.14 Th dei campioni tunisini: A, LTUN; B, NTUN; C, DTUN; D, RTUN.

è stata definita attraverso studi di simulazione di dinamica molecolare.

Nell'ultima parte del lavoro è stata effettuata una quantificazione dei vari lignani negli oli raffinati ed è stato dimostrato che essa può essere fatta in maniera semplice ed efficace utilizzando un sistema HPLC/DAD, senza bisogno del rivelatore di massa, molto più costoso e non sempre disponibile.

La ricerca dei nuovi isomeri dei lignani, che si formano durante la raffinazione, è stato infine proposto come metodo analitico al fine di individuare oli raffinati illegalmente aggiunti in oli vergini o extravergini d'oliva commerciali.

La ricerca oggetto di questo articolo è parte del progetto COMPETITIVE, finanziato dal Progetto AGER - Agroalimentare e Ricerca

* UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI FIRENZE, Dipartimento di Neuroscienze, Psicologia, Area del Farmaco e Salute del Bambino (NEUROFARBA); Ce.R.A. - Centro Interdipartimentale di Ricerca per la Valorizzazione degli Alimenti

Bibliografia

- Brenes, M., Garda, A., Rios, J.J., Garda, P., Garrido, A. Use of 1-acetoxypinoresinol to authenticate Picual olive oils. *Int. J. Food Sci. Technol.* 2002. 37, 615-625
- Cecchi, L., Innocenti, M., Melani, F., Migliorini, M., Conte, L., Mulinacci, N. New isobaric lignans from refined olive oil as quality marker for virgin olive oils. *Food Chem.* 2017, 219, 148-157
- Garcia, A., Ruiz-Mendez, M.V., Romero, C & Brenes, M. Effect of refining on the phenolic composition of crude olive oils. *Journal of the American Oil Chemists Society.* 2006. 2, 159-164.