

# Pubblicazioni del passato commentate alla luce delle conoscenze odierne

N. 2 - FEBBRAIO 1959 - Anno XXXVI

RIVISTA MENSILE

Spediz. in abbon. postale - Gruppo III

## OLII - GRASSI - COLORI MINERALI E SAPONI E VERNICI

RIVISTA UFFICIALE DELLA STAZIONE SPERIMENTALE PER LE INDUSTRIE DEGLI OLII E DEI GRASSI, DELLA COMM. TECNICA GOVERN. PER GLI OLII MINERALI, I GRASSI, I COLORI, LE VERNICI E I DETERSIVI E DELLA DIVIS. MATERIE GRASSE DELL'UNIONE INTERN. DI CHIMICA PURA ED APPLICATA - SEZ. ITALIANA

Direz. e Amm.: Olii Minerali - Grassi e Saponi - Colori e Vernici - Milano (36) - Via G. Colombo 79 (Città degli Studi) - Tel. 292.169 - 292.850  
Abbonamento annuo: Italia L. 5000 (numero separato L. 500) - Estero L. 8000 (numero separato L. 800)

Riproduzione vietata

### Applicazioni della spettrofotometria nell'analisi dell'olio d'oliva

**Nota I<sup>a</sup>: Impiego della spettrofotometria ultravioletta  
per la caratterizzazione degli olii sopraffini vergini di oliva - I.**

MONTEFREDINE A. e LAPORTA L.  
*Laboratorio Chimico Provinciale di Pescara*

Olii Minerali, Grassi e Saponi, Colori e Vernici 36 (2), 31-36 (1959)

Una nota di

**Paolo Bondioli e Lanfranco Conte**

SISSG - Società Italiana per lo Studio delle Sostanze Grasse - Milano

Accademia dei Georgofili - Firenze

✉ paolo.bondioli1956@gmail.com

Continuando con la nostra escursione nella storia della chimica analitica delle sostanze grasse non possiamo non parlare di questo fondamentale lavoro, pubblicato in due diverse note nell'anno 1959. La prima parte, quella che andremo ad analizzare in dettaglio, descrive le conoscenze fondamentali che stanno alla base della analisi spettrofotometrica nell'ultravioletto per quanto riguarda le sostanze grasse. La seconda parte, pubblicata sul numero successivo della Rivista [36 (3), 63-72 (1959)] riporta i risultati delle analisi condotte su 206 campioni di olio di oliva provenienti da tutta Italia. Va qui evidenziato come, conformemente alla legislazione (italiana) vigente all'epoca, negli articoli si parli di olio sopraffino vergine, fino vergine e "mangiabile". Le analisi sono

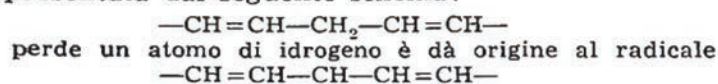
state realizzate nel 1958 e riguardavano i parametri: Acidità, Reazione di Kreis, Indice di Perossidi, Fluorescenza, Esame organolettico e Estinzione specifica nell'ultravioletto alle lunghezze d'onda di 232, 262, 264, 268, 270, 272, 274 e 280 nm. In tabella compaiono inoltre il rapporto R, inteso come rapporto tra le estinzioni specifiche misurate a 232 e 270 nm, nonché il  $\Delta K$ , calcolato utilizzando le estinzioni specifiche misurate a 268, 262 e 274, come si fa tuttora. Interessante notare che gli Indici di Perossidi riportati nel lavoro assumono valori a prima vista inverosimili, compresi tra 70 e 500, misurati secondo il metodo NGD Ba-IV-20 (1957), che non differisce sostanzialmente dal metodo ISO attualmente in uso. La differenza risiede nell'espressione del risultato, qui riportato in mg di ossigeno attivo per kg di sostanza grassa e non in milliequivalenti. Tra i due risultati esiste un fattore 8, relativo al peso atomico dell'ossigeno, che fa in modo che i risultati in questo modo espressi siano otto volte superiori a quelli che avremmo calcolato secondo le modalità attuali.

L'introduzione dell'articolo ripercorre le conoscenze sino ad allora disponibili, per poi entrare nel dettaglio degli aspetti chimici della questione.

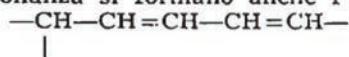
I sistemi di doppi legami coniugati possono originarsi nei grassi attraverso i fenomeni di ossidazione o con i trattamenti di raffinazione. Il problema, per quanto riguarda l'ossidazione, è stato studiato da Mitchell e Kraybill (2); secondo questi AA., il formarsi di sistemi con due o tre doppi legami coniugati è sempre preceduto da una ossidazione degli acidi grassi, alla quale fa seguito una perdita di acqua.

Limiteremo l'esame del complesso argomento ai casi che possono interessare l'olio d'oliva; possiamo presumere che negli olii si verifichino i seguenti fenomeni:

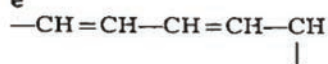
1) - Durante i primi stadi di ossidazione si formano idroperossidi; la loro formazione è spesso accompagnata da uno spostamento del doppio legame e conseguente formazione di un diene coniugato che determina un assorbimento a 232 m $\mu$ . La reazione può essere rappresentata dal seguente schema:



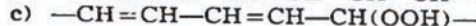
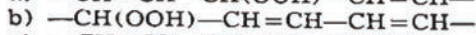
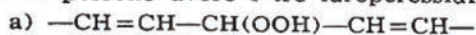
ma per risonanza si formano anche i radicali



e



e quindi si possono avere i tre idroperossidi



in due dei quali si è formato un doppio legame coniugato.

2) - La decomposizione degli idroperossidi e la disidratazione degli ossiacidi etilenici danno origine ad acidi grassi dienici che presentano anche essi una banda di assorbimento a 232 m $\mu$ .

In modo piuttosto criptico al punto 2) viene affrontata la questione dei dieni coniugati che si formano a seguito della formazione dell'idroperossido a carico dell'acido oleico e successiva disidratazione, secondo la reazione:



5) - Ricordiamo infine che un'altra causa di formazione dei doppi legami coniugati è il trattamento con alcali che provoca uno spostamento dei doppi legami come è stato descritto per gli idrocarburi fin dal secolo scorso (4). Nei grassi questa isomerizzazione alcalina fu osservata per la prima volta da Dann e Moore (5) e, studiata poi da Moore (6), ha avuto una larga applicazione nella chimica analitica dei grassi per la determinazione quantitativa degli acidi polinsaturi.

Questa ultima considerazione assume un valore storico ma non ha rilevanza analitica al giorno d'oggi, per la disponibilità attuale di sistemi analitici cromatografici e spettroscopici, dotati di enorme potenzialità di separazione e di identificazione.

Non si ha inoltre evidenza del fatto che per trattamenti con alcali del tipo di quelli che vengono realizzati nel caso della raffinazione chimica degli oli si possano verificare sensibili incrementi degli assorbimenti nella regione dell'ultravioletto. Anche in bibliografia non è facile trovare lavori nei quali vengano discusse le caratteristiche UV di campioni di oli di oliva prelevati nelle tappe intermedie della raffinazione. L'unico articolo reperito (K. Essid et al., *Influence of the neutralization step on the thermal and oxidative stability of acid olive oil*, J. Oleo Sci. 58 (7), 339-346 (2009)) purtroppo è basato su due soli campioni analizzati, per i quali però viene registrato un incremento degli indici UV a seguito di neutralizzazione chimica.

Per i nostri scopi è interessante stabilire che il trattamento con terre decoloranti produce la coniugazione in seguito alla distruzione dei prodotti secondari di ossidazione, l'alcali invece sposta un doppio legame già esistente in una posizione coniugata. Il trattamento con alcali produce una banda a 232 m $\mu$  in seguito a coniugazione dienica, mentre il trattamento con terre decoloranti, produce bande trieniche con massimo di assorbimento a 268 m $\mu$ .

(..omissis..)

D'accordo con Kaufmann, Thieme e Volbert (11), che si sono occupati soprattutto dell'assorbimento ultravioletto dello strutto di maiale, nelle curve di assorbimento dei grassi nell'ultravioletto sono da prendere in considerazione tre parametri distinti (fig. 1):

- a) L'assorbimento a 232 m $\mu$  dovuto agli acidi grassi dienici ed ai prodotti primari di ossidazione;
- b) L'assorbimento a 270 m $\mu$  dovuto ai prodotti secondari di ossidazione;
- c) Il picco nella zona di 268 m $\mu$  dovuto agli acidi grassi trienici.

Tra questi parametri si è cercato di stabilire una qualche relazione. Wolff J. P. (12) si è orientato verso il rapporto R tra l'assorbimento a 232 m $\mu$  e l'assorbimento a 270 m $\mu$ , basandosi sul concetto che nei prodotti naturali, con l'aumentare dell'indice di perossido, accanto agli idroperossidi che assorbono a 232 m $\mu$ , si formano composti chetonici, responsabili della svalutazione organolettica degli olii, che provocano un aumento dell'assorbimento a 270 m $\mu$ ; perciò il rapporto  $R = \frac{K_{232}}{K_{270}}$  si abbassa con la formazione dei corpi chetonici e sarà tanto più basso quanto più l'olio sarà di qualità scadente.

Molto interessante è la proposta di collegare le estinzioni specifiche misurate a 232 e 270 nm e di utilizzarle come dato con significato diagnostico. Vedremo più avanti come questo rapporto sia proposto come indice per valutare la qualità degli oli di oliva vergini. Bisogna anche dire che questa proposta non ha trovato molta fortuna in quanto a nostra conoscenza non ha avuto seguito in nessun ambito normativo.

Nei successivi passi dell'articolo viene avanzata una delle prime proposte per il calcolo e l'interpretazione del valore di  $\Delta K$ :

Kaufmann e coll. (11) hanno invece cercato di mettere in rilievo la formazione del picco che si presenta intorno a 268 m $\mu$  in presenza di acidi trienici: questi AA. fanno la media dell'assorbimento a 264 e 272 m $\mu$  e la sottraggono dal valore dell'assorbimento a 268 m $\mu$ ; evidentemente questa differenza, che moltiplicata per 100 viene indicata con T, sarà tanto maggiore quanto più netto è il picco che la curva presenta a 268 m $\mu$ . In definitiva  $T = (K_{268} - \frac{K_{264} + K_{272}}{2}) \cdot 100$ .

In buona sostanza si mette in pratica quanto sin qui discusso: i prodotti di ossidazione secondaria hanno assorbimenti nella zona delle lunghezze d'onda interessate, senza mostrare spiccati picchi di assorbimento, caratteristica invece dei trieni coniugati. Geometricamente il calcolo del  $\Delta K$  ha quindi il significato di eliminare il background dovuto ai prodotti di ossidazione secondari, per isolare invece il segnale per il quale i trieni coniugati sono responsabili.

A margine di quanto riportato nell'articolo, giova ricordare che fino agli ultimi anni '90 anche le Norme Ufficiali (Reg. CEE 2568/91 e le Norme Commerciali del Consiglio Oleicolo Internazionale), nel caso in cui fosse rilevato un assorbimento 270 nm superiore al limite di specifica, era prevista la purificazione su allumina, in modo da trattenere in colonna i prodotti di ossidazione ed isolare il segnale dovuto ai trieni coniugati.

A seguire troviamo poi un paragrafo che riteniamo molto significativo e precursore dei tempi. In uno specifico riferimento alla qualità degli oli gli Autori affermano:

La conoscenza dei parametri  $K_{270}$ , R ed indice di perossidi permette, secondo Uzzan, di apprezzare in maniera razionale e scientifica la qualità di un olio: se un fabbricante vuol produrre olio d'oliva di alta qualità non deve mantenere bassa la sola acidità, ma è

necessario abbassare contemporaneamente anche le altre variabili.

L'A. auspica una nuova legislazione che completi quella esistente ed in base alla quale l'olio d'oliva extra, oltre ad essere un olio ottenuto per pressione a freddo delle olive, la cui acidità espressa in acido oleico non superi il 0,7%, sia anche un olio con assorbimento specifico a 270 m $\mu$  eguale, al massimo, a 0,14-0,15, con un rapporto R non superiore a 13 e con indice di perossido inferiore a 100. Per le altre qualità di olio i limiti entro i quali queste caratteristiche possono variare potrebbero essere i seguenti:

	Acidità	K <sub>270</sub>	R $\leq$	Indice di P.
Olio Extra . . .	0,7 %	0,14 - 0,15	13	100
Olio sopraffino .	1,0 %	0,16 - 0,17	13	120
Olio fino . . .	1,5 %	0,18 - 0,20	15	150
Olio mangiabile .	2,0 %	0,20 - 0,22	15	200

Come si vede questo articolo pone le basi per una classificazione degli oli di oliva edibili che troverà poi recepimento, con alcune modifiche, nella Legge 13 Novembre 1960, n. 1407.

Avviandosi verso la conclusione del lavoro gli Autori citano una affermazione di Wolff, che appare quanto mai attuale, anche dopo 65 anni:

Questo gruppo di lavori francesi, che sono dedicati soprattutto alla classifica di qualità degli olii, si concludono con un altro lavoro di Wolff (13), il quale enuncia con molta esattezza il concetto che ci ha spinto ad effettuare le nostre ricerche sugli olii d'oliva italiani: «*La distinzione tra prodotti vergini e raffinati non è suscettibile di un controllo soddisfacente se non si impone ai prodotti vergini un minimo di qualità. Non si può ritenere vergine un olio che per l'insieme dei prodotti di ossidazione che contiene ha tutti i caratteri di un prodotto raffinato, perchè mal preparato e mal conservato*».

La valutazione organolettica degli oli vergini di oliva è ancora di là da venire, anche se nella seconda nota degli stessi Autori una colonna della immensa tabella sulle caratteristiche di qualità di oltre 200 campioni di olio è dedicata la parametro "Giudizio", in verità non molto positivo in quanto vi abbondano termini quali rancido, acido, acido e rancido.

Consigliamo a tutti gli interessati di dedicare qualche tempo ad una attenta lettura dei lavori originali, in quanto rappresentano una importante testimonianza nella costruzione delle nostre conoscenze odierne e una importante trattazione teorica delle stesse.

Una copia dell'articolo originale può essere richiesta inviando una email a: [risc@mi.camcom.it](mailto:risc@mi.camcom.it)

La bibliografia originale degli articoli si trova alla fine della seconda parte e viene qui riportata di seguito.

- 1) MONTEFREDINE A.: Recenti orientamenti nell'analisi dell'olio di oliva. - *Bollettino dei Laboratori Chimici Provinciali*, 9, 17 (1958).
  - 2) MITCHELL J. H. e KRAYBILL H. R.: *J. Am. Chem. Soc.*, 64, 988 (1942).
  - 3) HOLMAN R. T., LUNDBERG W. O., BURR G. O.: *J. Am. Chem. Soc.*, 67, 1386 - 1390 - 1669 (1945).  
HOLMAN R. T., LUNDBERG W. O., BURR G. O. e LAUER W. M.: *J. Am. Chem. Soc.*, 67, 1285 (1945).  
LUNDBERG W. O., HOLMAN R. T. e BURR G. O.: *Oil and Soap*, 23, 10 (1946).  
HOLMAN R. T. e BURR G. O.: *J. Am. Chem. Soc.*, 68, 562
  - 4) FAWORSKY A.: *J. Prakt. Chem.*, 44, 208 (1891).
  - 5) DANN W. J. e MOORE T.: *Biochem. J.*, 26, 1166 (1933).
  - 6) MOORE T.: *Biochem. J.*, 31, 138 (1937) e 33, 1635 (1939).
  - 7) DINGWALL A. e THOMSON J. C. J.: *J. Am. Chem. Soc.*, 66, 899 (1945).
  - 8) O'CONNOR R. T.: *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 32, 616 (1955).
  - 9) PITT G. A. J. e MORTON R. A.: Progress in the chemistry of fats. - *Pergamon Press*, 1957, pag. 227.
- 
- 11) KAUFMANN H. P., THIEME J. G. e VOLBERT F.: *Fette und Seifen*, 58, 1046 (1956).
  - 12) WOLFF J. P.: *Revue Française des Corps Gras*, 1, 214 (1954).
  - 13) WOLFF J. P.: *Annales des Fraudes et des Falsification*, 50, 149 (1957).
  - 14) CHEVALIER A., GUILLOT J. e CHABRE P.: *Bull. Soc. Chimie Biologique*, XV, 358 (1933).
  - 15) CHEVALIER A. e DUBOULOZ P.: *Bull. Soc. Chim. Biol.*, XIV, 1076 (1932).
  - 16) GUILLOT J.: *Annales des Falsifications et des Fraudes*, 28, 69 (1935).
  - 17) WOLFF G. e WOLFF J. P.: *Bollettino ITERG*, 6, 379 (1952).
  - 18) WOLFF J. P.: *Revue Française des Corps Gras*, 3, 17 (1956).
  - 19) UZZAN A.: *Revue Française des Corps Gras*, 3, 9, (1956).
  - 20) *Oleagineux*, 11, 235 (1956).
  - 21) D'ARRIGO G.: *Bollettino Informazioni Industria Olearia e Saponiera*, 2, 6 (1956).
  - 22) RAMB R.: *Fette und Seifen*, 47 575 (1940).
  - 23) D'ARRIGO G.: *Olii Minerali, Grassi e Saponi*, 35, 111 (1958).
  - 24) FOSCHINI A. e MINUTILLI F.: *Rassegna Chimica*, 9, n. 4, pag. 10 (1957).
  - 25) MINUTILLI F. e RUGGERI G.: *Analisi di Chimica*, 47, 963 (1957).
  - 26) MINUTILLI F.: *Rassegna Chimica*, 10, n. 3, pag. 24 (1958).

**Antonio Montefredine**

Laureato in Chimica nel 1926 presso l'Università di Roma, nel 1930 divenne direttore del Laboratorio Chimico del Laboratorio Provinciale di igiene e profilassi di Pescara; conseguì la laurea in Scienze Naturale nel 1939 e nel 1940 in Farmacia, fu libero docente di Industrie Agrarie (1942) e Bromatologia (1956) presso le Università di Milano, Bologna e Perugia, infine di Tecnica conserviera presso l'Università di Pescara. Nel 1963 fu eletto Presidente della Associazione Nazionale Chimici dei Laboratori Provinciali di Igiene, fu presidente della Società Italiana per lo Studio delle Sostanze Grasse, lavorò sulle sanse di olivo e sulla spettrofotometria UV e sulla gas cromatografia applicata agli oli d'oliva.

Presso la sede dell'edificio storico dei Laboratori Di Igiene e Profilassi di Pescara poi, a seguito delle riforme intervenute, del Presidio Multizonale di Igiene e prevenzione e, da ultimo, dell'Arta (Agenzia Regionale per la Tutela dell'Ambiente), esiste da oltre mezzo secolo la biblioteca scientifica intestata alla memoria di Antonio Montefredine, scienziato, bibliofilo e primo direttore di quei laboratori che sono stati a lungo di prestigio nazionale.

Non abbiamo purtroppo reperito notizie relative al secondo Autore, **L. Laporta**, che ha condiviso con il prof. Montefredine la responsabilità di questi importanti lavori. Se ci fosse un lettore in possesso di informazioni sarebbe un grande piacere pubblicare un'integrazione delle note biografiche in modo da rendere merito anche a lui per questi importanti lavori che non devono essere dimenticati.