
L'analisi dell'Olio



Francesco Settanni

con la collaborazione del frantoio "Amgfa Fratelli Pinnelli Srl"

www.frantoiopinnelli.com

L'Olio

La produzione dell'olio di oliva avviene in due fasi fondamentali:

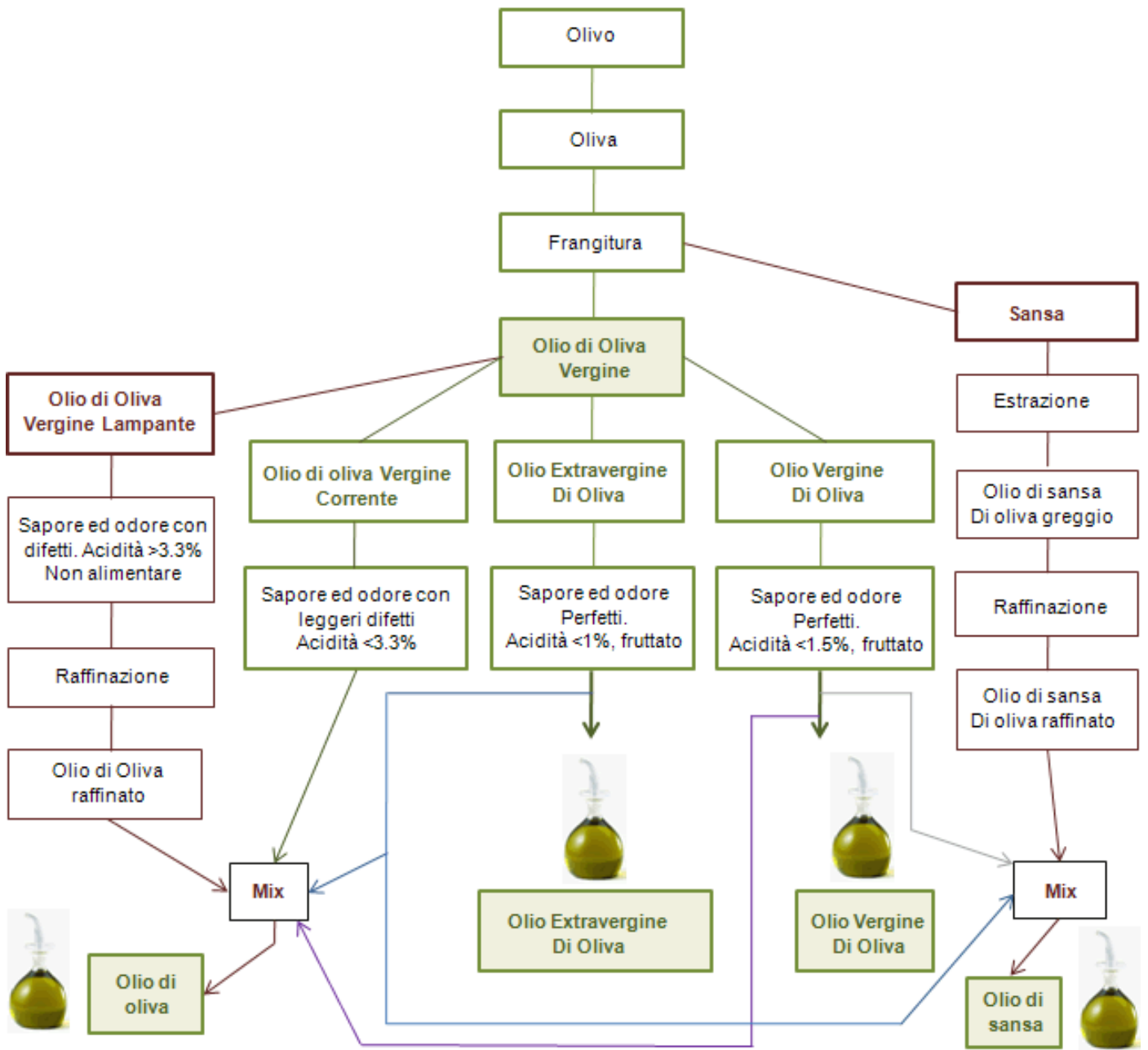
1. la macinazione della polpa (molitura o frangitura);
2. la successiva separazione della frazione oleosa dagli altri componenti solidi e liquidi (estrazione).

Gli oli vergini si distinguono nettamente dagli altri oli per due prerogative: la materia prima (rappresentata dalla polpa delle olive) e il metodo d'estrazione (rappresentato da processi di natura esclusivamente meccanica). L'estrazione degli oli vergini impiega esclusivamente l'urto, la pressione, la centrifugazione, la decantazione, la filtrazione, la tensione superficiale e il trattamento meccanico delle emulsioni. Le altre tecniche prevedono l'impiego di metodi fisici e chimici. La normativa e gli standard di qualità per olio vergine impongono l'impiego esclusivo di metodi meccanici. L'olio ottenuto con il ricorso a metodi chimici e fisico-chimici è pertanto identificato con tipologie merceologiche differenti e distinte dal vergine. Nel caso degli oli ottenuti dalle olive, i metodi fisici e chimici sono processi secondari attuati in impianti distinti, per rettificare oli vergini non commestibili o per estrarre la frazione lipidica dal seme. Per un approfondimento riguardanti i processi di lavorazione visitare il sito "www.pieralisi.com" azienda del settore, nella cui sezione processi di lavorazione sono riportate le più moderne tecniche di lavorazione con le relative macchine.

Composizione chimica dell'Olio di oliva

La composizione dell'olio d'oliva dipende da diversi fattori: l'ambiente e il clima della zona in cui è prodotto, la varietà delle olive, le tecniche di coltivazione della pianta, il tipo di raccolta, la fase di stoccaggio del prodotto e la lavorazione del frutto. L'olio di oliva è un grasso vegetale costituito per il 98% circa dalla frazione saponificabile (costituita da trigliceridi e da piccole quantità di digliceridi e monogliceridi) e per il restante 2% dalla frazione insaponificabile (costituita da cere, squalene, clorofille, caroteni, steroli, tocoferoli, polifenoli).

Gli acidi grassi (AG) dell'olio sono presenti principalmente come costituenti dei trigliceridi e dei gliceridi. Una piccola percentuale di AG è presente anche in forma libera. Quando gli AG sono in grandi quantità fanno aumentare il valore dell'acidità, quindi la possibilità degli oli di ossidarsi, a partire dai radicali liberi, rendendo un olio sgradevole). Gli acidi grassi sono formati da molecole contenenti atomi di carbonio legati tra loro da legami semplici (saturi, forma cis in quelli naturali: palmitico \approx 7-15 % e stearico \approx 1-3 %) o uno o più doppi legami (monoinsaturi: oleico \approx 70-80%; polinsaturi: linoleico 10%).



Determinazione acidità percentuale e numero di acidità

Introduzione

Il numero di acidità **N.A.** (o numero di neutralizzazione) di un campione è la quantità di idrossido di potassio espressa in mg necessaria per neutralizzare l'acidità di un grammo di campione. Il metodo più usato prevede la dissoluzione del campione in un opportuno solvente e la sua titolazione con una soluzione a concentrazione nota di idrossido di potassio in presenza di fenolftaleina.

Applicazione all'olio

In genere un grasso od un olio contiene più di un acido grasso, anche se uno è, normalmente, in quantità preponderante. Ad esempio nell'idrolisi dell'olio d'oliva si ricava circa l'83% di acido oleico; dal burro è possibile ricavare per idrolisi anche più di 15 tipi di acidi grassi.

Secondo la legislazione italiana (DM 31 -10 -1987, n.509) l'olio d'oliva è classificato in base all'acidità espressa in acido oleico. Nell'olio extravergine d'oliva tale acidità in acido oleico deve essere 1 g x 100 g di olio.

La determinazione dell'acidità di un olio si effettua con una titolazione con idrossido di potassio 0.1 M; da questa si ricavano sia il numero di acidità, ovvero i mg di KOH necessari a neutralizzare gli acidi liberi presenti in 1 g di olio, sia l'acidità espressa in % in massa di acido oleico. Per olio in questo documento si intende olio alimentare e non oli lubrificanti ecc.

Reattivi

- ▶ Campione di olio;
- ▶ Idrossido di potassio "KOH" 0,1 M;
- ▶ Etere etilico;
- ▶ Alcol etilico;
- ▶ Indicatore di pH;

Materiali

- ▶ Buretta da 50 mL;
- ▶ Vetreria;

Strumenti

- ▶ Bilancia analitica;

Indicazioni di sicurezza

- ▶ KOH

Simboli di rischio chimico:



Frase H: 314 - 290;

Consigli P: 280 - 301 + 330 + 331 - 305 + 351 + 338 - 309 + 310;

Indossare occhiali di sicurezza e guanti.

- ▶ Etere dietetico - Etanolo

La miscela alcool etilico - etere etilico deve essere preparata, se possibile, sotto cappa a causa della volatilità dell'etere. Accertarsi che non siano presenti nelle vicinanze fiamme libere o riscaldatori elettrici in funzione.

Procedimento

1. Pesare accuratamente su bilancia analitica, in una beuta da 250 mL, una quantità in grammi di olio in esame che dipende dal grado di acidità presunto, e che può essere estrapolata dalla tabella:

Numero di acidità presunto	Massa di campione da analizzare
< 1	20
1 a 4	10
4 a 15	2,5
15 a 75	0,5
> 75	0,1

2. In un cilindro graduato preparare una miscela 1:3 V:V di alcool etilico ed etere etilico e travasarla in una seconda beuta da 250 mL.
3. Preparare la buretta sul suo sostegno versando in essa la soluzione di idrossido di potassio 0.1 M, e azzerarla.
4. Prendere la beuta contenente 10-20 mL della miscela alcool-etere e ad essa aggiungere 1-2 mL di fenolftaleina; poiché la miscela risulta debolmente acida è necessario neutralizzarla con alcune gocce di soluzione di KOH, fatte defluire dalla buretta, fino a evidente colorazione violetta "in modo che l'acidità della soluzione non interferisca con quella del campione dando falsi risultati".

5. Riazzere la buretta, travasare la miscela prima preparata nella beuta contenente l'olio, ed agitare per alcuni secondi al fine di rendere omogeneo il tutto, che, per la presenza degli acidi grassi, ritorna incolore.
6. Titolare ed annotare i risultati.

Calcoli

Il risultato può essere espresso sia in termini di "numero di acidità" sia in termini di % di **acido oleico**.

$$\text{N.A.} = V \times M \times MM_{\text{KOH}} \times 1000 / P$$

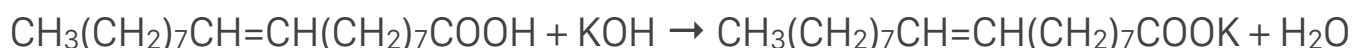
oppure

$$\% \text{ Acido Oleico} = V \times M \times MM_{\text{Acido Oleico}} \times 100 / P$$

dove:

- ▶ **V** = volume di KOH utilizzato per la titolazione del campione "in L"
- ▶ **M** = molarità della soluzione di KOH in "mol/L"
- ▶ **P** = peso del campione di olio "in g"
- ▶ **MM_{KOH}** = peso molare dell'idrossido di potassio: 56,11 g/mol
- ▶ **MM_{Acido Oleico}** = peso molare dell'acido oleico: 282,47 g/mol

La reazione di neutralizzazione che avviene, riferita all'**acido oleico** è la seguente, da cui si può notare il rapporto stechiometrico 1:1 tra KOH e **acido oleico** che indica che una mole di acido oleico sarà neutralizzata da una mole di KOH:



Note

Categorie	% Acido Oleico
Olio extra vergine d'olivo	< 0,8
Olio di olivo vergine	< 2,0
Olio di olivo lampante	>2,0
Olio di olivo raffinato	< 0,3
Olio di olivo composto di oli di oliva raffinati e di oli di oliva vergini	<1,0
Olio di sansa di oliva greggio	-

Categorie	% Acido Oleico
Olio di sansa di olivo raffinato	< 0,3
Olio di sansa di oliva	< 1,0

Classificazione commerciale degli oli in base al grado di acidità percentuale

Esempio operativo

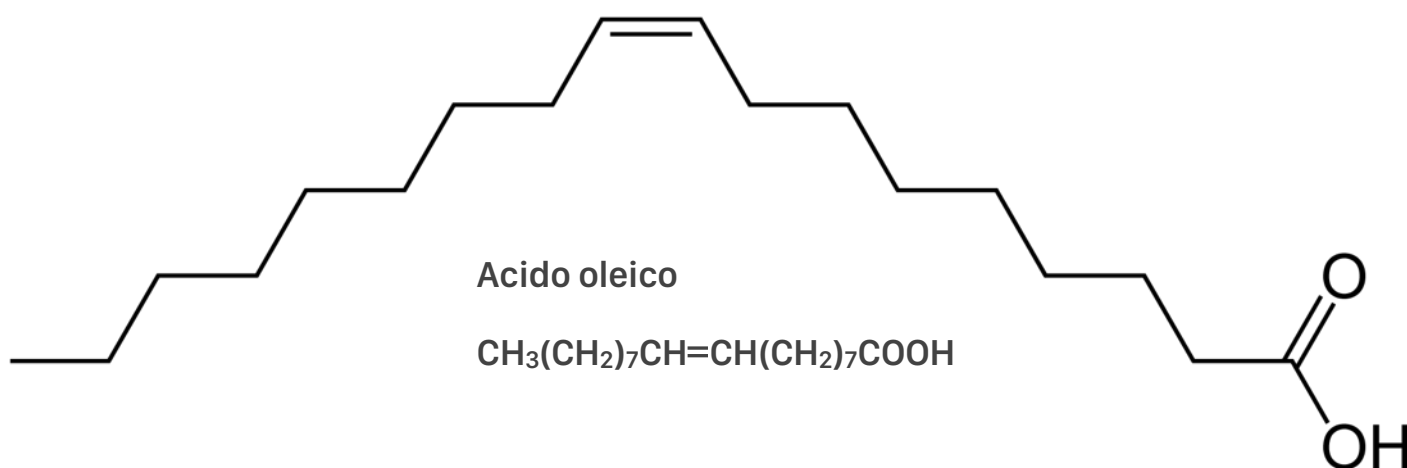
Abbiamo analizzato un campione di 10 g d'olio proveniente dal frantoio "Pinnelli" utilizzando KOH 0,1 M. La titolazione è stata effettuata consumando 2,7 mL di KOH.

Calcoli

$$\% \text{ Acido Oleico} = 2,7 \times 10^{-3} \text{ L} \times 0,1 \text{ mol/L} \times 282,47 \text{ g/mol} \times 100 / 10 \text{ g} = 0,763 \%$$

$$\text{N.A.} = 2,7 \times 10^{-3} \text{ L} \times 0,1 \text{ mol/L} \times 56,11 \text{ g/mol} \times 1000 / 10 \text{ g} = 1,51$$

Il risultato "1,51" indica che per neutralizzare l'acidità di 1 g di olio sono necessari 1,51 mg di KOH, il che è nettamente inferiore all'N.A. dell'**acido oleico** puro, pari a $56,11 \text{ g} / 282,47 \text{ g} = 0,199$, proprio perché la maggior parte degli acidi grassi contenuti nell'olio si trovano sotto forma di esteri, quindi impossibilitati di svolgere la loro funzione acida. Quando l'acidità è alta l'olio conterrà acidi grassi liberi in maggior quantità, spesso a causa di una cattiva conservazione delle olive da cui deriva. Tenendo conto delle precedenti considerazioni e confrontando i parametri ottenuti con la tabella delle classificazioni commerciali possiamo considerare il nostro olio come extra vergine.



Determinazione numero di perossidi

Introduzione

Il numero di perossidi **N.P.** è il quantitativo delle sostanze presenti nel campione, espresse in milliequivalenti di ossigeno attivo per kg, che ossidano lo ioduro di potassio nelle condizioni che vengono descritte.



Può accadere che gli oli siano soggetti a difetti ed alterazioni. I difetti principali che si possono riscontrare sono legati ad aromi sgradevoli che possono deprezzare in modo rilevante gli oli di oliva vergini, per i quali anche la legislazione prescrive caratteri organolettici adeguati, mentre non rappresentano un grave danno per gli oli che vengono poi sottoposti a processi di rettifica.

Stoccaggio delle olive della tipologia

possono dare all'olio un sapore di terra, sapore di metallo se sono rimaste per troppo tempo a contatto con parti ferrose. Per quando riguarda le alterazioni il principale è l'irrancidimento ossidativo o autossidazione. Si tratta di un irrancidimento di natura prevalentemente chimica. Colpisce gli acidi grassi insaturi, sia liberi sia legati al glicerolo. Diversi sono i fattori che favoriscono la serie di reazioni che caratterizzano l'autossidazione :

- ▶ Presenza di ossigeno
- ▶ Presenza di metalli (rame e ferro)
- ▶ Luce solare (radiazioni ultraviolette)
- ▶ Calore
- ▶ Numerosi doppi legami nella catena degli acidi grassi

Olive molte sporche

In presenza di luce la clorofilla e le feofitine hanno un effetto dannoso sugli acidi grassi, poiché portano l'ossigeno allo stato di massima reattività, pronto a scatenare fenomeni ossidativi. In assenza di luce tale azione è inibita e i pigmenti suddetti lavorano in sinergia con le sostanze polifenoliche al fine di bloccare i fenomeni ossidativi.

Reattivi

- ▶ Campione di olio;
- ▶ Tiosolfato di sodio "Na₂S₂O₃" 0,01 N;
- ▶ Salda d'amido (oppure: soluzione di amido, dispersione acquosa di 10 g/L, di recente preparazione da amido naturale solubile);
- ▶ Soluzione satura di Ioduro di potassio "KI" di recente preparazione, esente da iodio e da iodati;
- ▶ Miscela Acido acetico glaciale e Cloroformio 3:2;

Versare i liquidi di smaltimento nell'apposito contenitore!


Materiali

Tutta l'apparecchiatura usata deve essere esente da sostanze riducenti od ossidanti.
(Non ungere le superfici smerigliate)

- ▶ Buretta da 50 mL;
- ▶ Beute a tappo smerigliato aventi capacità di 250 mL.

Indicazioni di sicurezza

- ▶ CH₃COOH - Acido acetico - Acido etanoico


Simboli di rischio chimico: 

Frasi H: 314 - 226;

Consigli P: 280 - 301 + 330 + 331 - 305 + 351 + 338 - 309 + 310;

Indossare occhiali di sicurezza e guanti.

- ▶ CHCl₃ - Cloroformio - Triclorometano

Simboli di rischio chimico: 

Frasi H: 351 - 302 - 373 - 315;

Consigli P: 302+352 - 314;

Il cloroformio è un liquido nocivo per inalazione, lavorare sotto cappa. L'acido acetico può provocare ustioni, evitare il contatto con la pelle. In caso di contatto accidentale, lavare immediatamente la parte interessata con acqua e sapone.

Procedimento

1. Pesare nella beuta a tappo smerigliato con una massa del campione conformemente alla tabella in basso ed al numero di perossidi previsto (generalmente 1 g di olio).

Numero di perossidi presunto	Massa di campione da analizzare
0 - 12	5,0 - 2,0
12 - 20	2,0 - 1,2
20 - 30	1,2 - 0,8
30 - 50	0,8 - 0,5
50 - 90	0,5 - 0,3

2. Aggiungere 25 mL di miscela di acido acetico e cloroformio.
3. Tappare rapidamente ed agitare per far sciogliere la sostanza da analizzare.
4. Aggiungere quindi 1 mL di soluzione satura di ioduro di potassio.
5. Tappare rapidamente, agitare per 1 minuto e lasciar riposare per 5 minuti esatti al riparo dalla luce, ad una temperatura compresa tra 15°C e 25°C.
6. Aggiungere circa 75 mL di acqua distillata.
7. Titolare lo iodio liberato con la soluzione di tiosolfato di sodio agitando vigorosamente, fino a che la soluzione non appare giallo chiaro; a questo punto aggiungere la salda d'amido così che la soluzione si colorerà di azzurro, continuare ad aggiungere tiosolfato fino a colorazione incolore.
8. Eseguire almeno due volte l'analisi.
9. Eseguire una prova in bianco "ovvero titolando con aggiunta di salda d'amido sino a colorazione incolore".

Calcoli

Il numero di perossidi "**N.P.**" espresso in milliequivalenti di ossigeno per kg è dato dall'equazione:

$$\mathbf{N.P.} = V \times N \times 1000 / P$$

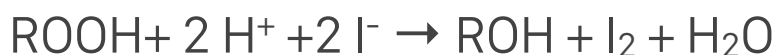
dove:

- ▶ **V** = volume di tiosolfato utilizzato per la titolazione del campione meno la quantità utilizzata nella prova in bianco "in mL"

- ▶ **N** = normalità della soluzione di tiosolfato in "eq/L"
- ▶ **P** = peso del campione di olio "in g"

Questo metodo consiste nel valutare il contenuto dei prodotti primari dell'autossidazione delle sostanze mediante una titolazione iodometrica, ovvero una titolazione dello iodio libero formatosi dall'ossidazione di ioduro da parte degli idroperossidi, con una soluzione di tiosolfato di sodio standardizzato.

Gli idroperossidi in presenza di KI si riducono secondo la seguente reazione redox:



La quantità di I_2 che si libera da questa reazione è direttamente proporzionale alla quantità di idroperossidi presenti nel campione, per cui si può risalire alla loro quantità mediante titolazione con tiosolfato di sodio a concentrazione nota.

Lo iodio formatosi viene titolato con tiosolfato di sodio. Avviene la seguente reazione redox:



(reazione di titolazione) L'indicatore utilizzato è la salda d'amido, di colore blu – viola in presenza di I_2 .

Note

Categorie	N.P.
Oli d'oliva raffinati (privati dei perossidi)	< 5
Oli d'oliva in ottimo stato di conservazione	< 10
Oli d'oliva in buono stato di conservazione	10 - 25
Oli d'oliva rancidi	> 20

Classificazione commerciale degli oli in base al numero di perossidi

Esempio operativo

Abbiamo analizzato un campione di 5,104 g d'olio proveniente dal frantoio "Pinnelli" utilizzando tiosolfato di sodio 0,01 M. La titolazione è stata effettuata consumando 4,8 mL di titolante e senza effettuare la prova in bianco "anche se è opportuno effettuare".

Calcoli

$$\text{N.P.} = 4,8 \text{ mL} \times 0,01 \text{ mol/L} \times 1000 / 5,104 \text{ g} = 9,40 \text{ meq/kg}$$

Il risultato "9,40" indica che le olive sono state conservate in modo adeguato e che gli acidi grassi che lo compongono non hanno subito reazione indesiderate di ossidazione "irrancidimento".



La fase finale del processo di produzione

Determinazione rancidità tramite Saggio di Kreiss

Introduzione teorica

Il saggio di Kreiss permette di effettuare una misura qualitativa, approssimativa, del grado di irrancidimento di un olio di oliva.

Per irrancidimento si intende tutto il processo di degenerativo del grasso, dalla formazione degli idroperossidi e dalla rottura dei trigliceridi fino alla formazione di prodotti secondari di irrancidimento: perossidi, idroperossidi, epiperossidi, prodotti di scissione, prodotti di polimerizzazione, aldeidi ad alto peso molecolare, acido formico.

Sotto l'aspetto chimico il saggio rivela la presenza di prodotti secondari dell'autoossidazione degli acidi grassi e si accompagna solitamente alla determinazione del numero di perossidi (prodotti primari dell'autoossidazione), peraltro quest'ultima una misura quantitativa

Nel momento in cui l'esito del saggio dovesse essere positivo non si è necessariamente in presenza di olio rancido o comunque con un buon avanzamento del processo che provoca la trasformazione allo stesso.

Il processo si innesca con la fissazione dell'ossigeno e continua in vario modo secondo la presenza di tracce metalliche, il contatto con materiali usati per la conservazione degli alimenti, l'esposizione alla luce, la temperatura.

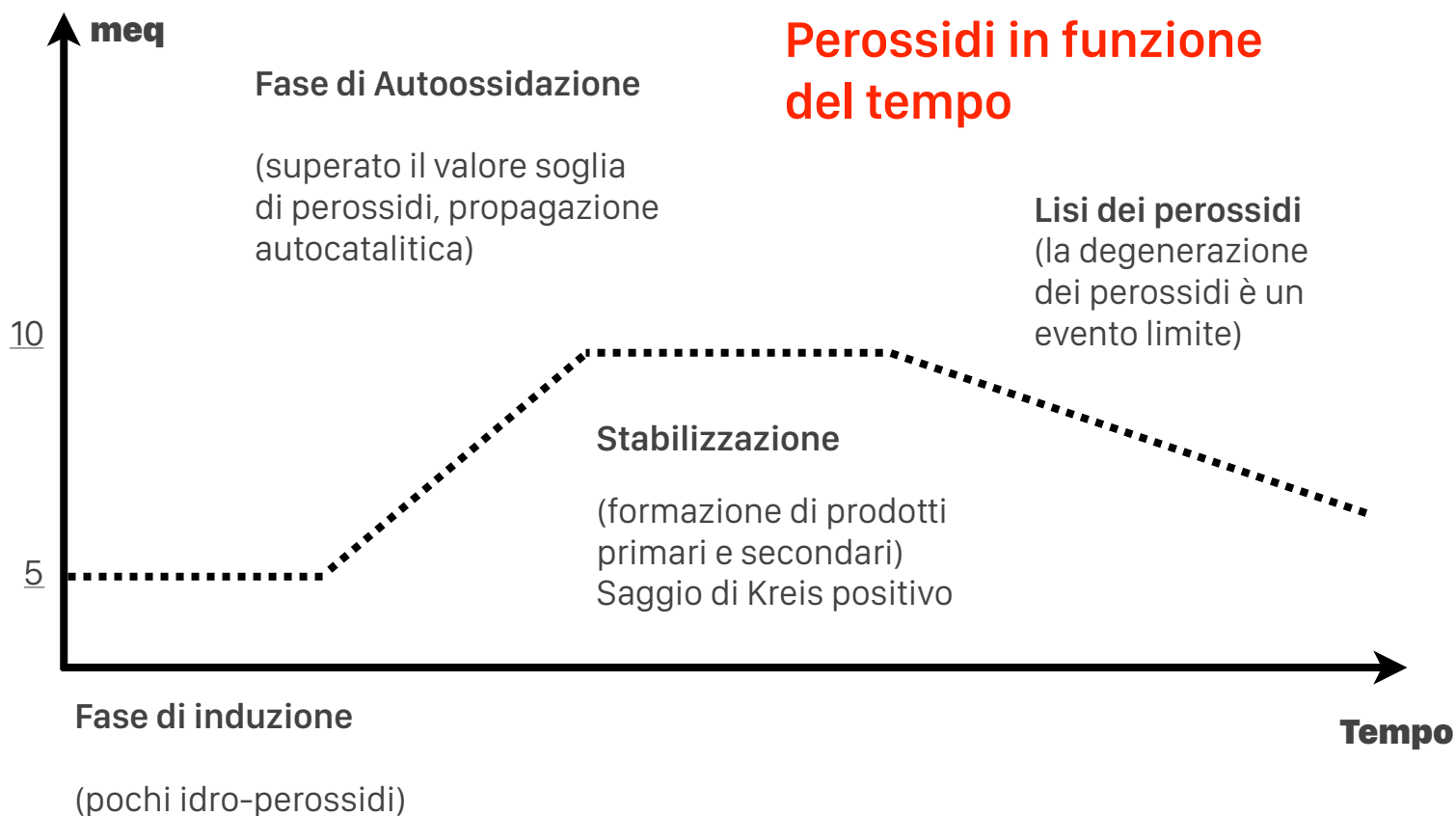
Le sostanze grasse più colpite sono quelle che vedono prevalente la componente acidica polinsatura (ad alto numero di doppi legami). Soggiacciono quindi con maggiore facilità ai fenomeni ossidativi, se sottoposte a prolungato riscaldamento, alcune sostanze (olio di soia, di colza) rispetto ad altre (olio di oliva, di arachide) più equilibrate nella componente polinsatura o più ricche di antiossidanti naturali (tocoferoli).

Alterazione ossidative delle proprietà organolettiche

I processi di irrancidimento sono di vari tipi:

1. Irrancidimento idrolitico: rottura dei trigliceridi ad opera di H_2O e lipasi "enzima utilizzato da microorganismi per metabolizzare oli vegetali, spesso utilizzati proprio come fonti di carbonio nei terreni di coltura perché facilmente assorbiti" a formare mono e digliceridi, glicerina ed acidi grassi liberi;

2. Bioossidazione ad opera di muffe (es. nei semi oleaginosi) determinando irrancidimento chetonico (cheto-acidi);
3. Irrancidimento ossidativo: combinazione di O_2 con acidi grassi liberi o esterificati ad originare idroperossidi;
4. Irrancidimento secondario (vero e proprio) che, dalla degradazione degli acidi grassi, dà origine a prodotti di ossidazione secondaria quali alcoli, epossidi, aldeidi, chetoni, esteri ed altro.



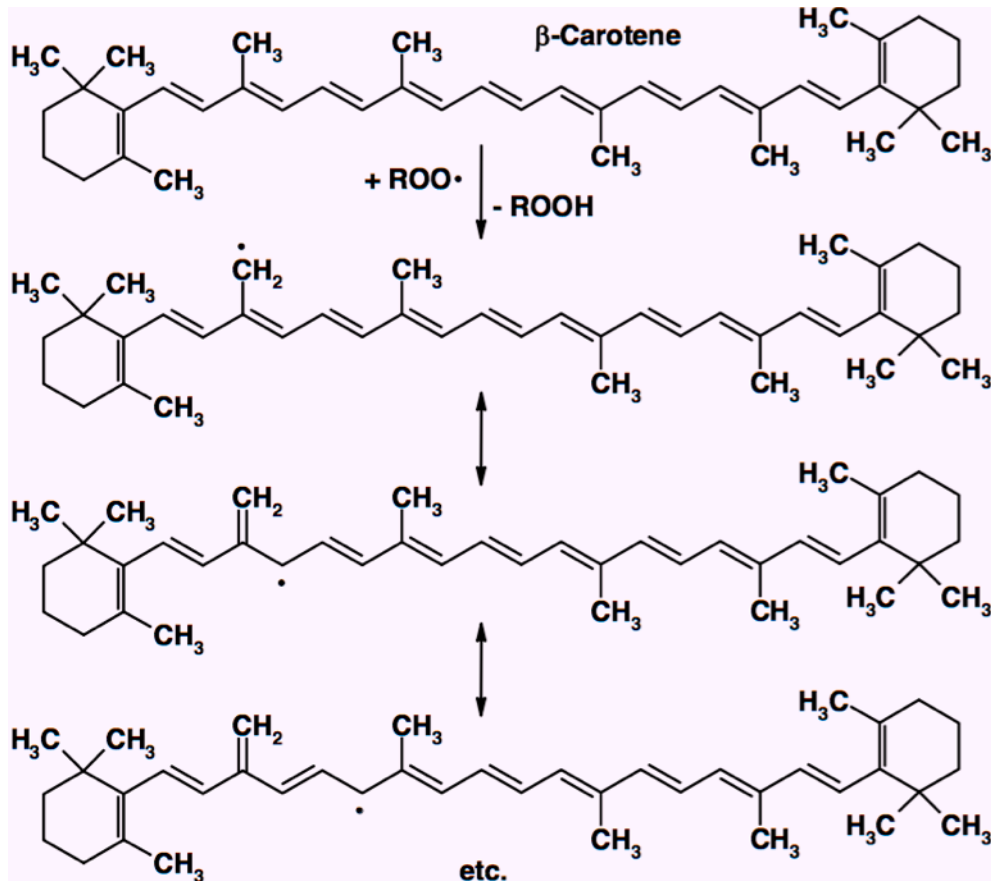
I fattori di irrancidimento incidono in modo variabile e sono spesso combinati:

- ▶ Presenza di Ossigeno;
- ▶ Alto grado di instaurazione;
- ▶ Presenza di metalli pesanti (Fe, Cu, ecc);
- ▶ Irradiazione luminosa, in particolare UV;
- ▶ Ridotta presenza o assenza di antiossidanti.

Significato dei singoli parametri analitici indicativi della rancidità:

- ▶ **Numero di perossidi "trattato precedentemente"**: è direttamente proporzionale alla presenza di perossidi nel grasso; è significativo soprattutto nella fase iniziale autocatalitica di ossidazione. L'unità di misura sono i milliequivalenti di ossigeno attivo per kg di grasso (estratto).

- ▶ **Acidità** "trattato precedentemente": indica la percentuale di acidi grassi liberi (non esterificati) del grasso (irrancidimento idrolitico). L'unità di misura è rappresentata dalla percentuale di acidi grassi liberi espressi in acido oleico (o altro acido).

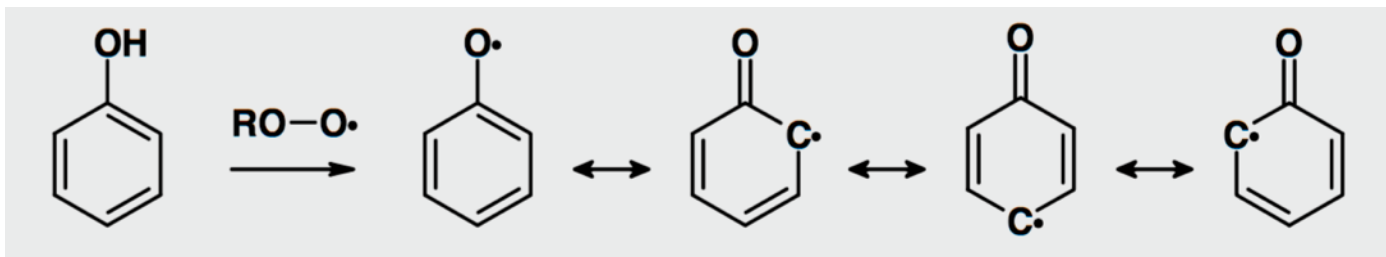


- ▶ **Saggio di Kreiss:** Indicatore qualitativo della presenza di aldeidi (prodotto secondario di ossidazione). Si ricorda che può essere oggetto di interferenze cromatiche (es olio di cotone e di oliva). Il saggio è positivo se lo strato inferiore della sol. grasso/acido/floroglucina presenta colorazioni dal rosa netto al rosso.
- ▶ **N° di p-anisidina:** correlato con la presenza di chetoni (prodotto secondario di ossidazione). L'unità di misura è espressa come Estinzione a 350 nm di una soluzione 1 g/dL di grasso.

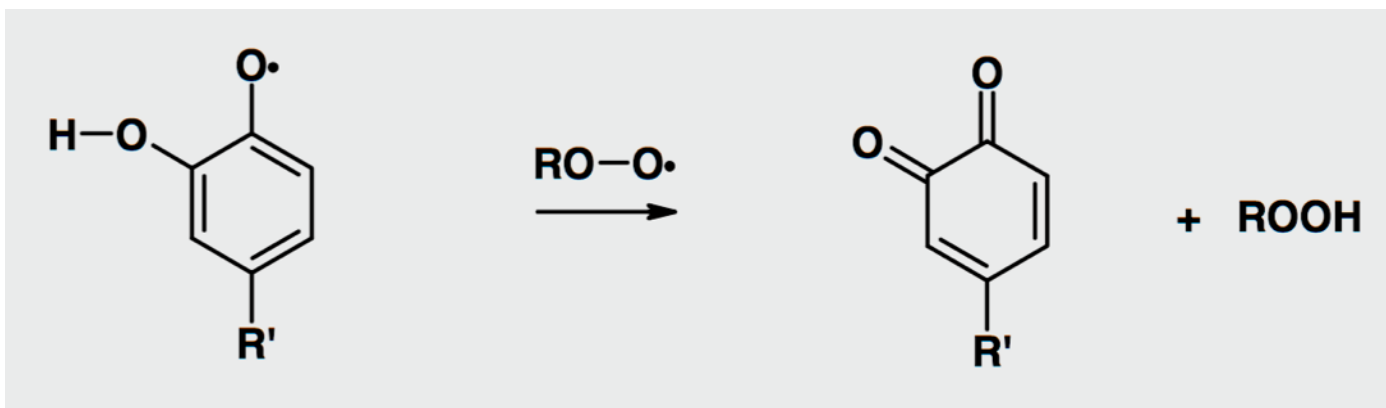
Durante la fase di autoossidazione la formazione di prodotti di primari e secondari, che costituiscono veri e propri metaboliti tossici, è ancora contenuta ma il giudizio qualitativo sul grasso è scadente e comporta progressivo rischio di intossicazione. I prodotti il cui grasso sia nello stato delle fasi successive, sono sicuramente causa di rilevanti problematiche sanitarie.

I principali composti antiossidanti che inibiscono l'irrancidimento ossidativo dell'olio sono:

- ▶ **Fenoli:** i più comuni antiossidanti idrogeno donatori sono quelli a struttura fenolica, La stabilità del radicale che si forma è dovuta alla sua delocalizzazione.

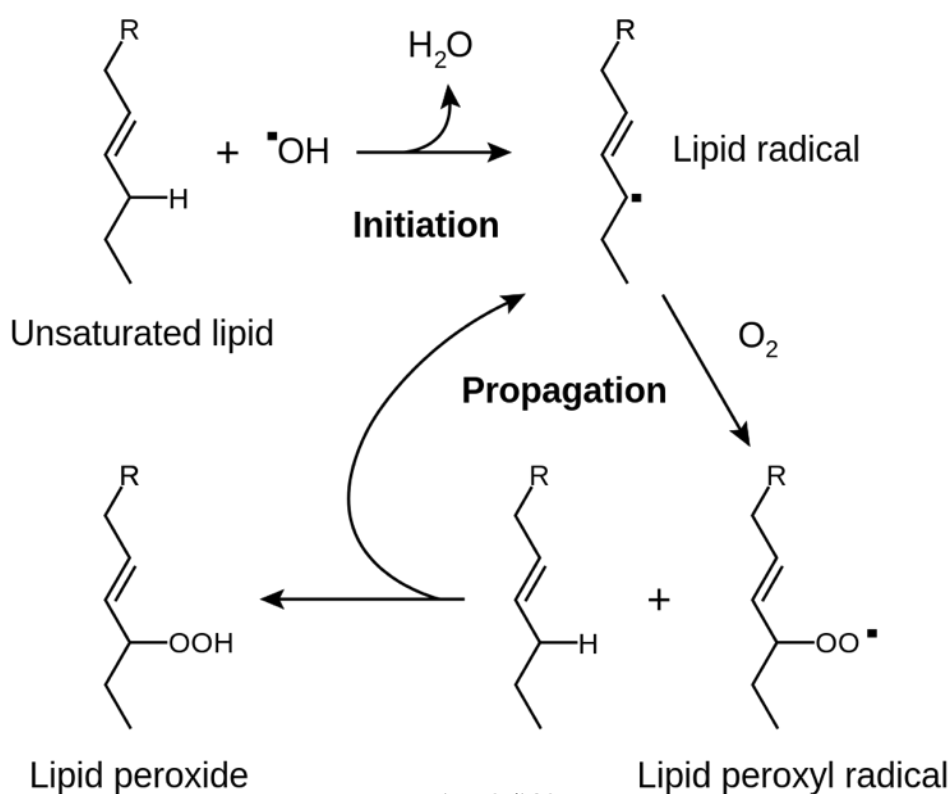


- ▶ **Polifenoli "Idrossifenoli":** gli idrossifenoli, erroneamente chiamati polifenoli possiedono due gruppi -OH e possono quindi reagire due volte con i perossiradicali per idrogeno estrazione portando a strutture chinoidi coniugate molto stabili.



- ▶ **Caroteni:** molecole poliinsature come i caroteni possono deattivare i perossi radicali ($\text{ROO}\cdot$) attraverso la donazione di un idrogeno allilico formando un radicale carotenoide neutro, fortemente stabilizzato dalla risonanza ($\text{Car}\cdot$).

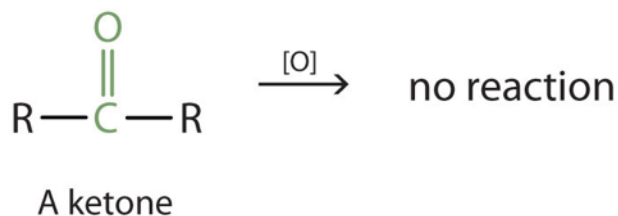
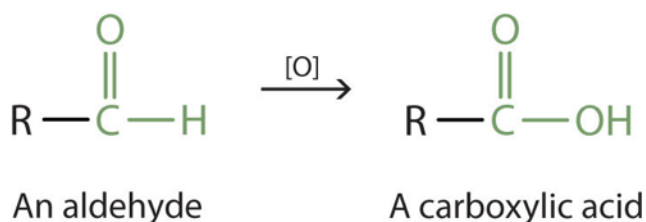
Processo di irrancidimento ossidativo generico:



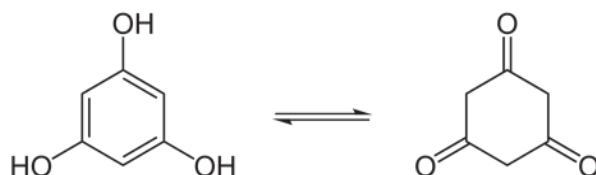
Procedimento

1. Si agitano per 30 secondi 10 mL di olio e 10 mL di HCl concentrato.
2. Si aggiungono 10 ml di reagente: soluzione 0,1% di fluoroglucina in etere etilico e si lascia riposare.
3. Dopo aver lasciato stratificare si osserva, se lo strato inferiore è incolore "oppure brunastro o sbiadito" il saggio è negativo, se è rosa o rosso è positivo; più il colore è intenso più l'olio è irrancidito, precisamente viene considerato positivo quando la colorazione dello strato inferiore è più intensa di una soluzione allo 0.0012 % di KMnO_4 e negativo al contrario.

Come si può vedere dalle reazioni sottostanti, i chetoni sottoposti ad azione ossidante non reagiscono, per questo il saggio misura l'eventuale presenza delle sole aldeidi e non dei chetoni.



Fluoroglucina nelle sue forme tautomere



Note

Come precedentemente detto il saggio evidenzia l'irrancidimento avanzato di un olio, ma non rileva i prodotti primari dell'ossidazione.

La determinazione della stabilità dell'olio all'irrancidimento è utile ai fini della commercializzazione dell'olio, specie se imbottigliato, per diagnosticarne la resistenza alla conservazione. La prova consisterebbe nell'esporre una piccola quantità in un becker alla temperatura di 60 °C in stufa e determinando quotidianamente la reazione di Kreiss e/o la determinazione dell'indice dei perossidi fino a comparsa dell'irrancidimento. Se l'intervallo di tempo intercorso supera 8-10 giorni, l'olio può essere considerato sufficientemente stabile.

Determinazione assorbanza specifica olio

Introduzione teorica

Negli oli di oliva vergini ed in buon stato di conservazione, sono presenti soltanto doppi legami isolati, e sistemi di due o tre doppi legami non coniugati, relativi agli acidi oleico (un doppio legame in posizione 9), linoleico (2 doppi legami in posizione 9, 12) e linolenico (3 doppi legami in posizione 9,12,15). In genere, i doppi legami degli acidi insaturi presenti nelle sostanze grasse di origine naturale manifestano un generico assorbimento intorno a 210 nm fino a 300 nm dovuta alle transizioni $n \rightarrow \pi^*$ dei cromofori etilenici isolati ed alle transizioni $n \rightarrow \sigma^*$ dei cromofori carbonilici. Durante i processi industriali di rettificazione si formano doppi e tripli legami coniugati che manifestano assorbimento caratteristico: intorno a 232 nm i sistemi dieni (-C=C-C=C-) e intorno a 276 i sistemi trienici (-C=C-C=C-C=C-).

Assorbimenti di dieni e trienici coniugati

Gruppo cromoforo	λ_{\max} (nm)
Legame singolo	170
Diene (trans,trans)	231
Diene (cis,trans)	232-235
Triene (trans,trans,trans)	259 268 279
Triene (cis,cis,cis e trans,trans,cis)	262 271 279
Triene (cis,cis,trans)	265 275 387

È bene precisare che questi assorbimenti non sono dovuti soltanto ai sistemi dieni e trienici, ma anche ai prodotti di ossidazione, che si formano negli oli, ad esempio, in fase di irrancidimento. Gli idroperossidi prodotti durante la fase iniziale di ossidazione possono subire

ulteriori ossidazioni, trasformandosi in dieni o trienici coniugati. Ad esempio, gli idroperossidi di acidi grassi di-insaturi (es. linoleico), producono dieni coniugati, mentre quelli di acidi grassi tri-insaturi (es. linolenico) producono trienici coniugati. Ne segue che un olio di pressione mal conservato può mostrare assorbimenti elevati a queste lunghezze d'onda e risulterà declassato, dallo spettrofotometro, ad olio rettificato.

L'esame spettrofotometrico dell'olio di oliva secondo il metodo ufficiale dei Regolamenti della CEE prevede la determinazione dell'estinzione specifica, in soluzione in isoottano, alle λ di 232 e 270 nm e la determinazione del parametro ΔK inteso come:

$$\Delta K = K_{268} - [(K_{262} + K_{274}) / 2]$$

dove con assorbanza specifica (K), spesso indicato ϵ "epsilon", si definisce l'assorbanza ad una certa lunghezza d'onda di una soluzione all'1% in massa dell'olio in esame nel solvente prescelto, osservata in una cuvetta dello spessore di 1 cm.

$$A = K \times b \times C$$

$$K = A / b \times C$$

dove:

A = assorbanza alla lunghezza d'onda λ

C = concentrazione della soluzione (g/100 mL di solvente)

b = lunghezza del cammino ottico (1 cm).

I valori di K distintivi delle varie tipologie di olio sono riportati in tabella:

	K₂₃₂	K₂₇₀	ΔK
Olio extra vergine di oliva	≤ 2,5	≤ 0,22	≤ 0,01
Olio di oliva vergine	≤ 2,6	≤ 0,25	≤ 0,01
Olio di oliva lampante	-	-	-
Olio di oliva raffinato	-	≤ 1,10	≤ 0,16
Olio di oliva composto di oli di oliva raffinati e di oli di oliva vergini	-	≤ 0,9	≤ 0,15
Olio di sansa di oliva greggio	-	-	-
Olio di sansa di oliva raffinato	-	≤ 2	≤ 2
Olio di sansa di oliva	-	≤ 1,7	≤ 0,18

Classificazione commerciale degli oli in base alle caratteristiche dello spettro UV

Strumenti

- ▶ Spettrofotometro UV-visibile;

Materiale

- ▶ Matracci tarati da 25 mL
- ▶ Cuvetta di quarzo

Reattivi

- ▶ Isoottano "richiesto dalla normativa vigente" oppure cicloesano;
- ▶ Campione di olio da analizzare;

Procedimento

Il campione di olio in esame deve essere perfettamente omogeneo e privo di impurezze sospese. In caso di torbidità, l'olio va filtrato su carta a temperatura di circa 30°C. Del campione così preparato si pesano 0,25 g in matraccio tarato da 25 mL e si porta a volume con il solvente prescritto. La soluzione risultante deve essere perfettamente limpida. Qualora si riscontri opalescenza o torbidità si filtra rapidamente su carta.

Acquisizione dello spettro

Si azzerava lo strumento con il solvente puro e si registra lo spettro UV da 200 a 300 nm. La cuvetta verrà successivamente avvinata per 2 o 3 volte con la soluzione di olio di oliva da esaminare. Con la stessa soluzione si riempie la cuvetta e si misurano gli assorbimenti alle lunghezze d'onda significative comprese fra 232 e 276 nm. Tutti i valori letti (262-268-274), escluso quello a 232 nm devono essere compresi tra 0.1 e 0.8; diversamente, si dovranno preparare soluzioni più concentrate o più diluite. Una volta ottenuti i valori si procede all'applicazione del modello matematico che distingue i vari tipi di olio.

Note

I prodotti dell'**irrancidimento ossidativo**, inevitabilmente presenti in un olio di oliva, modificano lo spettro di assorbimento UV indipendentemente dalla qualità dello stesso olio. Può dunque capitare di giudicare rettificato un olio di oliva vergine contenente un' aliquota cospicua di prodotti di ossidazione. Quando l'assorbimento specifico K_{270} è superiore a 0,25 si procede ad un preventivo passaggio su allumina. Questo trattamento elimina tutti i prodotti di ossidazione presenti negli oli ma non altera la configurazione dei doppi legami, a seguito di questo trattamento si può effettuare un' analisi spettrofotometrica che verifichi l'effettiva qualità di un olio.

La normativa a livello europeo "**Regolamento 61/11/UE della Commissione del 24 gennaio 2011**" che regola il campo è presente nel sito majorana.weebly.com a: <http://majorana.weebly.com/files/theme/RegolamentoOlio.pdf>. Dato il continuo aggiornamento dei regolamenti in materia si consiglia di visitare, per la consultazione delle normative aggiornate dei parametri chimico-fisici che classificano un olio, la sezione "Olio d'oliva" del sito: www.pianidisettore.it.

A scopo conoscitivo si consiglia di effettuare un' analisi allo spettrofotometro di Olio extravergine di oliva fresco, Olio extravergine di oliva ossidato e di una miscela di Olio extravergine di oliva e olio di semi che metta in luce le differenze nello spettro dei vari tipi di olio.

Determinazione numero di iodio secondo Wijs

Introduzione teorica

Il numero di iodio (o "numero di assorbimento di iodio" o "indice di iodio") esprime la quantità di iodio espressa in g che viene consumata da 100 g di una sostanza chimica.

Una soluzione di iodio è intensamente colorata (viola nei solventi organici, marrone in acqua o alcol); ogni gruppo funzionale presente sulla molecola della sostanza in esame capace di reagire con lo iodio ne provocherà la decolorazione. La quantità di soluzione di iodio richiesta dal campione è quindi una misura della quantità di gruppi reattivi sensibili allo iodio.

Un'applicazione del numero di iodio è la determinazione del grado di insaturazione (ossia della presenza di doppi legami) negli acidi grassi poiché i legami doppi degli acidi grassi reagiscono con lo iodio, addizionandolo.

La procedura presenta alcune varianti, tra cui quella in cui il campione di acido grasso è trattato con un eccesso della **soluzione di Hanus** - una soluzione di **bromuro di iodio "BrI"**. L'eccesso non reagito di bromuro di iodio è successivamente trattato con **ioduro di potassio "KI"** che lo converte in iodio elementare "**I₂**". La concentrazione dello iodio è quindi misurata tramite titolazione con tiosolfato di sodio.

Alternativamente si usa il **reattivo di Wijs**, che è una soluzione in acido acetico/ cicloesano di **cloruro di iodio "I-Cl"**, una sostanza molto reattiva, a causa del momento dipolare permanente, capace di alogenare facilmente i doppi legami.



Si titola poi con tiosolfato/amido l'eccesso di iodio non reagito e quindi si risale per differenza a quello assorbito dalle insaturazioni.

Cenni storici del saggio

Il metodo del numero di iodio venne inventato dal generale austro-ungarico e barone, **Freiherr Arthur von Hübl** "Freiherr è l'equivalente tedesco di barone", il cui padre "Franz" partecipò vittorioso come generale d'artiglieria dell'Armata del Sud austriaca nella battaglia di Custoza (1866) durante la terza guerra di indipendenza italiana, che utilizzava **una soluzione alcolica di cloruro di mercurio e iodio** sui grassi sciolti in cloroformio,

Arthur von Hübl



comparando con una prova in bianco il colore risultante dopo la reazione. Questo metodo naturalmente meno accurato di quello standard di Wijs "che lo migliorò successivamente". È tuttavia un metodo di importanza storica, "old style" o "vintage".

Procedimento "metodo del barone von Hübl"

La reazione che avviene tra iodio e cloruro di mercurio è la seguente:



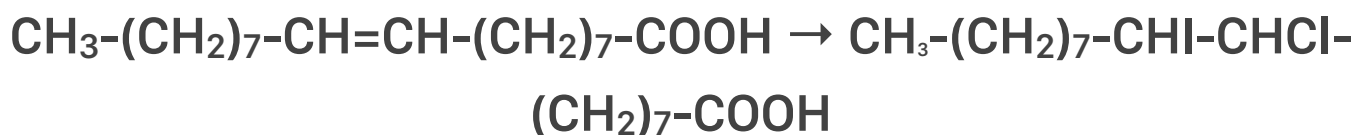
dove si viene a formare proprio il **cloruro di iodio**, buon reattivo per i doppi legami, che vengono saturati da entrambi gli alogeni.

Procedimento:

1. Sciogliere 3 g di **HgCl₂** in 25 mL di etanolo ed altrettanto fare con 2,7 g di iodio, mescolare le soluzioni e portare a 100 mL.
2. Questo è il **reattivo di Hübl** originale, che contiene in 1 mL 0,0172 g di ICl.
3. Porre in una capsulina bianca 10 mL di cloroformio, 5 gocce di reattivo e tenere per la prova di confronto "come bianco";
4. In un'altra capsula porre 1 mL di olio e 10 mL di cloroformio, mescolando fino a soluzione.
5. Titolare ora lentamente con il reattivo, mescolando ogni volta, fino a che la soluzione abbia lo stesso colore giallastro della prova in bianco.

Si nota che ad ogni aggiunta, aspettando un poco, avviene la decolorazione del reattivo, indice dell'avvenuto legame degli alogeni (si lega sia lo iodio che il cloro) al doppio legame dell'acido oleico e di eventuali altri acidi grassi insaturi. L'acido oleico è infatti un acido insaturo e ha un doppio legame.

Reazione di alogenazione dell'acido oleico con **reattivo di Hübl**:



Allo stesso modo avviene per l'**acido linoleico** "con l'unica differenza che essendo doppiamente insaturo avverrà su entrambi i doppi legami", presente anch'esso in discreta quantità nell'olio di oliva.

La decolorazione avviene all'inizio lentamente, poi in maniera veloce e ritorna più lenta verso la fine; attendere quindi qualche minuto prima di procedere con le ulteriori ultime aggiunte.

Esempio operativo

Nell'esperimento in laboratorio sono stati consumati 26 mL di **reattivo di Hübl**; la foto mostra il colore delle due capsule alla fine della reazione, quando abbiamo considerato finita la titolazione.



Saggio di Wood

Introduzione teorica

Il saggio di Wood è un saggio complementare di tipo qualitativo e serve a ricercare gli oli di oliva raffinati miscelati agli oli di oliva extravergine di pressione. Per quanto interessante, questo saggio, non può servire da solo a stabilire la natura e la qualità di un olio se non abbinato ad altre prove. Per svolgere l'analisi è necessaria una lampada Wood, ovvero una lampada che emetta luce nella banda luminosa dell'UV-A ad una lunghezza d'onda di circa 365,4 nm (lampade di quarzo, a vapori di mercurio a filtri di vetro a base di Nichel).

Gli oli raffinati presentano fluorescenza di colore celeste, mentre gli oli extravergini di prima spremitura danno una fluorescenza giallo-arancio.

Materiali

- ▶ Capsula di porcellana a fondo piatto;
- ▶ Lampada di Wood.

Procedimento

1. Si preleva una certa quantità di olio in esame e si pone in una capsula;
2. Porre la capsula sotto la sorgente di luce di Wood ad una distanza di circa 15 - 25 cm (dopo 5 min dall'accensione della lampada);
3. Verificare il colore dopo 2 minuti di irradiazione.
4. Passati 2 minuti, se l'olio presenta una fluorescenza azzurrina, il saggio è da considerarsi **POSITIVO**; se la fluorescenza è giallo-arancio, il saggio è **NEGATIVO**.



Lampada di Wood

Frodi da miscelazione

Una delle adulterazioni più temute e controllate a danno degli oli d'oliva e della loro qualità è quella di diluirli con oli di semi raffinati e quindi di scarsa qualità. In questo modo, si riesce a smaltire e guadagnare su oli di semi in eccedenza e anche non utilizzabili per il consumo umano.

Per combattere efficacemente questa frode alimentare, la legge obbliga dal 1929 tutti gli oli di semi prodotti e commerciati per l'alimentazione umana ad essere addizionati con un 5% minimo di olio di sesamo.

In questo modo, si può rivelare la presenza di olio di semi in quello d'oliva anche in una parte su 20 grazie soprattutto a due semplici tests chimici qualitativi di tipo cromatico: il saggio di Villavecchia-Fabris e quello di Isidoro-Pavolini.

Questi saggi sono basati sulla reazione cromatica in presenza di acidi del furfurolo (un aldeide formata da un gruppo aldeidico legato ad un anello di furano, un etere ciclico a 5 atomi) con il sesamolo, un etere metilenico di un composto dell'idrochinone, presente nella frazione insaponificabile dell'olio di sesamo.

Altri metodi più sensibili ed accurati sono l'analisi spettrofotometrica all'UV-VIS e, ancora di più, la gascromatografia.

Saggio di Villavecchia-Fabris

Introduzione teorica

Si tratta di un metodo analitico molto in uso nel passato, che si basava sulla ricerca del sesamolo. Dato che questa sostanza per legge doveva essere aggiunta a tutti gli oli di semi, mentre è totalmente assente nell'**olio extravergine d'oliva**, la sua presenza era indice di adulterazione del campione.

Procedimento

1. Si usa un cilindro di vetro da 50 mL con tappo e si versano 10 ml dell'olio da esaminare e 10 mL di acido cloridrico al 37%.
2. Si agita bene per circa 30 secondi e si lascia riposare qualche minuto.
3. Si aggiungono 0,5 ml di soluzione di furfurolo allo 0,2% in una miscela di alcol etilico al 5% in acqua.
4. Si tappa, si agita energicamente e si attende per qualche minuto.
5. Si stratificano così due fasi liquide: una sovrastante di olio ed una sottostante acquosa ed acida.

6. L'acido libera dalla sesamolina il sesamolo per idrolisi e questo reagisce col furfurolo per dare una colorazione rossa nello strato acido sottostante se l'olio contiene oli di semi additivati con olio di sesamo proprio per consentire questo test.

Saggio di Isidoro-Pavolini

Procedimento

1. Si mettono in un cilindro di vetro con tappo si versano 10 mL dell'olio in esame e 5 mL di una soluzione preparata con 35 ml di furfurolo in anidride acetica.
2. Si chiude, si agita per 1 minuto e si versa in un imbuto separatore da 50 ml. Lo strato inferiore che si forma si separa, si raccoglie in una capsula e vi si aggiungono 6-7 gocce di acido solforico concentrato.
3. Se nel campione è presente olio di sesamo, si forma una colorazione verde-azzurra. Indubbiamente, il test di Villavecchia-Fabris è più semplice e veloce, con l'utilizzo di reattivi meno pericolosi dell'acido solforico; basta operare sotto cappa aspirante per via dell'acido cloridrico concentrato.