

**Le proprietà nutrizionali e benefiche
dell'olio extravergine d'oliva**

La nutraceutica dell'olio evo

di Gabriella Butera e Anna Micalizzi

L'olio extravergine d'oliva, nelle ricette spesso abbreviato come olio evo (o EVO), rappresenta uno degli alimenti più antichi la cui preparazione consiste nella semplice spremitura del frutto della pianta *Olea europaea* originaria del medio Oriente. A partire dal 5000 a.C. e fino al 1400 a.C. circa, la coltivazione delle olive si è diffusa dal medio Oriente fino a Creta, alla Siria, alla Palestina e a Israele, per poi arrivare in tutti i paesi del Mediterraneo.

In questo ultimo secolo all'olio extravergine d'oliva sono state attribuite in numero sempre crescente eccezionali proprietà nutritive che accompagnate dall'alta digeribilità e dalle comprovate proprietà salutistiche lo hanno eletto alimento principe della dieta mediterranea.

In questo articolo discuteremo assieme come le nuove tecnologie della chimica analitica ci aiutano a descrivere le sue caratteristiche nutraceutiche in maniera sempre più completa e approfondita.

I primi studi sulle proprietà nutraceutiche

Le indagini sulle proprietà nutraceutiche (vedi box) dell'olio extravergine d'oliva cominciano alla fine degli anni Cinquanta, quando il biologo e fisiologo statunitense Ancel Benjamin Keys (1904-2004) condusse uno studio comparativo dei regimi alimentari in sette nazioni, intitolata semplicemente "Seven Countries Study" (Stati Uniti, Italia, Olanda, Grecia, Finlandia, Giappone ed ex Jugoslavia). Esso mise in luce che gli abitanti dell'isola di Creta (Grecia) erano quelli con il più basso indice di mortalità per malattie coronariche. Questo fenomeno venne messo in relazione con l'utilizzo - praticamente esclusivo - dell'olio extravergine d'oliva per la cottura e il condimento dei cibi, a discapito degli altri oli di origine vegetale e del burro, ampiamente usati nelle diete di altre popolazioni come per esempio quella anglosassone. Ciò indusse ricercatori di tutto il mondo ad

ampliare le conoscenze per comprendere, in ogni loro aspetto, le eccezionali proprietà nutraceutiche dell'olio evo. Oggi la grande mole di risultati, ottenuta da rigorosi studi scientifici, conferma i suoi importanti benefici per la salute. Diverse proprietà sono riconducibili a specifici componenti dell'olio, ma alcune delle più importanti derivano dal consumo dell'alimento nella sua interezza. L'olio extravergine d'oliva contrasta l'invecchiamento cellulare, esercita una modesta azione preventiva sull'insorgenza della trombosi, inibisce la secrezione acida dello stomaco, stimola la secrezione pancreatica ed esercita un effetto colecistocinetico nel drenaggio della bile. Inoltre è molto importante per la maturazione delle fibre nervose di nuova formazione e nella crescita delle ossa lunghe. Infine gli è stata attribuita una discreta attività antiinfiammatoria, riconducibile a meccanismi che inibiscono la formazione di molecole con un'elevata attività immunologica e infiammatoria.

Distribuzione dell'olivo nel bacino del Mar Mediterraneo

Frutti in maturazione di Olea europea L.

[Immagine: H. Zell, Wikipedia Commons, 2010]

Frutti maturi di Olea europea L.

[Immagine: H. Zell, Wikipedia Commons, 2011]



LA NUTRACEUTICA

Il termine nutraceutica, derivato dalla fusione di "nutrizione" e "farmaceutica", è stato coniato nel 1989 dal Dr. Stephen L. DeFelice, fondatore e presidente della *Foundation of Innovation Medicine* (New Jersey, Usa) e si riferiva originariamente allo studio di alimenti che hanno una funzione benefica sulla salute umana. Oggi la definizione si riferisce a prodotti isolati e purificati dagli alimenti, solitamente venduti in forma farmaceutica/erboristica, con provati benefici per l'organismo o proprietà protettive contro l'insorgere di patologie croniche. Per estensione sono definiti nutraceutici quei cibi che associano certe caratteristiche nutrizionali a comprovate proprietà terapeutiche di alcuni principi attivi in essi naturalmente contenuti.

Esempi di alimenti nutraceutici naturali sono l'olio extravergine d'oliva, grazie alla presenza di grassi insaturi e polifenoli, diversi tipi di frutti rossi, come i gelsi, che contengono antociani e polifenoli, i pomodori per il loro apporto di licopene. I polifenoli e le vitamine di questi vegetali hanno una potente attività antiossidante che protegge le nostre cellule dallo stress ossidativo dovuto ai radicali liberi. Esistono inoltre ortaggi ai quali negli ultimi anni è stato riconosciuto un ruolo chiave nella prevenzione di alcuni tipi di cancro; i più noti sono i membri della famiglia Cruciferae cui appartengono, tra gli altri, cavoli, broccoli e cavoletti di Bruxelles.

Tra gli alimenti di origine animale è opportuno citare il salmone e il pesce azzurro ricchi di acidi grassi omega-3 e omega-6. Questi ultimi vengono definiti essenziali poiché non possono essere sintetizzati dall'organismo e devono necessariamente essere introdotti con la dieta.

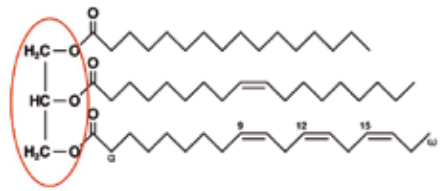
Composizione e caratteristiche nutrizionali

Oggi per l'importanza commerciale che ha assunto l'olio extravergine d'oliva e per garantire al consumatore la sua qualità e i benefici derivanti dal consumo, una serie di rigorose norme ne regola la produzione e le caratteristiche.

Per essere definito tale, l'olio extravergine d'oliva deve essere estratto solo con mezzi meccanici (spremitura) e non deve subire manipolazioni o aggiunte di additivi chimici; in questo processo non deve essere soggetto a riscaldamento e il suo grado di acidità "libera" non deve superare il valore massimo di 0,8 g per 100 g di olio. Inoltre deve possedere alcuni requisiti di sapore e aroma a cui viene assegnato un punteggio

Schema esemplificativo della struttura di un ipotetico trigliceride. La parte cerchiata in rosso a sinistra è il glicerolo da cui si dipartono tre catene di acidi grassi. Dall'alto in basso troviamo: acido palmitico, oleico e α -linolenico.

diverse, tra cui la consistenza e la digeribilità che dipende strettamente dall'incompatibilità della loro natura idrofobica con



l'ambiente digestivo. Soltanto gli acidi grassi a catena corta riescono ad essere assimilati, all'allungarsi della catena aumenta l'idrofobia e l'assorbimento intestinale diminuisce.

L'acido grasso più abbondante nell'olio extravergine d'oliva è l'acido oleico (monoinsaturo) che rappresenta più del 70% dell'intera frazione lipidica. Esso sembra avere un ruolo importante nel contrastare l'insorgenza dell'ischemia cardiovascolare; studi recenti hanno messo in luce che un basso livello di acido oleico nelle piastrine circolanti è sempre associato a questa patologia. Seguono, in percentuali decrescenti di abbondanza, diversi acidi grassi saturi e polinsaturi: l'acido palmitico, l'acido stearico, l'acido linoleico e l'acido linolenico (vedi tabella qui sotto). Questi due ultimi acidi grassi appartengono rispettivamente alla categoria degli acidi omega-6 e omega-3. Si tratta di composti che devono pertanto essere obbligatoriamente assunti con la dieta, indispensabili per la produzione di energia, la formazione delle membrane cellulari e la sintesi di emoglobina. Inoltre, influenzano l'aggregazione piastrinica, la vasodilatazione, la costrizione delle arterie coronariche e la pressione del sangue. Infine l'acido linoleico e l'acido linolenico hanno un ruolo determinante per la funzione delle prostaglandine, la produzione e il corretto equilibrio ormonale. La carenza di questi acidi produce astenia, pelle secca, deficit immunitario, ritardo della crescita, sterilità. L'alto contenuto in acidi grassi monoinsaturi nell'olio extravergine d'oliva è la principale caratteristica che lo differenzia dagli altri grassi di origine vegetale.

Gli steroli rappresentano la seconda componente lipidica dell'olio extravergine d'oliva. Sono sintetizzati in natura a partire dallo squalene. Sono presenti in notevole quantità: da 110 a 265 mg per ogni 100 g di olio. Oltre il 94-97% degli steroli è rappresentato da β -sitosterolo; altri steroli peculiari dell'olio extravergine d'oliva sono campesterolo e stigmasterolo. La loro analisi è fondamentale per l'individuazione di frodi alimentari mediante tagli con oli diversi, la loro composizione permette



Infiorescenza di olivo della specie Olea europea L., Creta, Grecia. [Immagine: H. Zell, Wikipedia Commons, 2010]

ai sensi dell'allegato XII del regolamento (CE) N. 640/2008 che riporta il metodo del consiglio oleicolo internazionale per la valutazione organolettica degli oli d'oliva vergini.

L'olio evo è costituito da due componenti: una a concentrazione decisamente più elevata di natura lipidica apolare (circa il 99% del contenuto totale), l'altra di natura polare è rappresentata principalmente da tocoferoli, polifenoli, carotenoidi, clorofilla e alcoli.

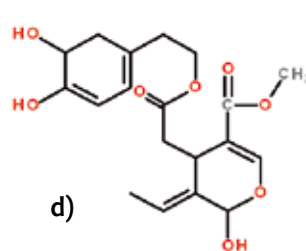
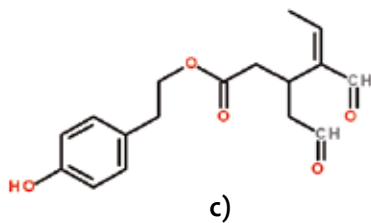
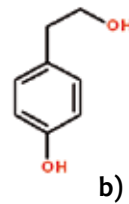
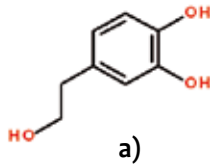
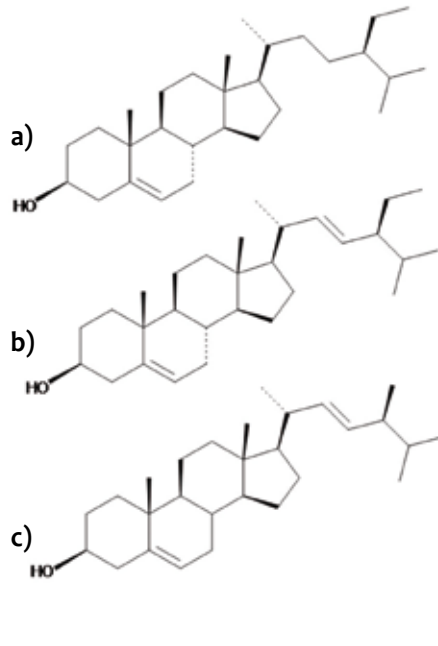
La frazione lipidica è costituita da trigliceridi e steroli. I trigliceridi sono formati dall'unione di un alcool a tre atomi di carbonio, il glicerolo, e da acidi grassi in numero variabile che differiscono per lunghezza e presenza o meno di doppi legami nella loro catena, in base alla quale vengono definiti rispettivamente insaturi e saturi. Questi possiedono caratteristiche

Principali acidi grassi dell'olio extravergine d'oliva e loro digeribilità

Nome	C:D*	Presenza (%)	Digeribilità (%)
Acido oleico	C18:1	70-83	84
Acido palmitico	C16:0	5,7-18,6	48
Acido stearico	C18:0	0,5-4,0	20
Acido linoleico	C18:2	3,5-20,0	90
Acido linolenico	C18:3	0,1-0,6	96

*: C:D indica il numero di atomi di carbonio seguito da quello dei doppi legami, questi ultimi sono assenti negli acidi grassi saturi

Gli steroli peculiari dell'olio extravergine d'oliva: a) β -sitosterolo, b) stigmasterolo, c) campesterolo.



I composti fenolici dell'olio extravergine d'oliva più studiati in ambito nutraceutico: a) idrossitirosolo; b) tirosolo; c) oleocantale; d) oleuropeina aglicone. [Da Cicerale et al., *Current Opinion in Biotechnology*, 2011, 23:1-7]

di individuare l'aggiunta di olio di colza o cartamo, mentre valori di β -sitosterolo inferiori a quelli caratteristici sono solitamente indice di miscelazione con oli di semi.

Fitosteroli e polifenoli: i paladini del benessere

Studi sperimentali ed epidemiologici hanno dimostrato che una dieta ricca di fitosteroli offre una buona protezione verso i tumori del colon, del seno e della prostata. Numerose ipotesi sono state avanzate sul meccanismo d'azione di queste molecole nei confronti della proliferazione delle cellule tumorali. In particolare, l'azione del β -sitosterolo sulle cellule neoplastiche sembra manifestarsi mediante un aumento

dell'apoptosi, cioè della morte programmata della cellula. Negli ultimi anni è stato evidenziato anche il ruolo protettivo dei fitosteroli nei confronti delle malattie cardiovascolari, attraverso la riduzione dell'assorbimento intestinale del colesterolo. Infine, recentemente, è stata evidenziata una funzione di stimolo da parte del β -sitosterolo sul sistema immunitario, in particolare sulla proliferazione dei linfociti, anche se ancora non è noto il meccanismo d'azione.

L'equilibrata composizione in acidi grassi e la presenza di sostanze antiossidanti consentono all'olio extravergine d'oliva di mantenere una buona stabilità.

I componenti minori dell'olio extravergine d'oliva svolgono un ruolo molto importante sia dal punto di vista nutraceutico che organolettico. Inoltre rappresentano un prezioso riferimento analitico per il controllo di eventuali sofisticazioni a carico del prodotto. Il gruppo più importante in tal senso è sicuramente quello dei polifenoli.

È stato dimostrato che la componente polifenolica, in cui sono stati individuati almeno 36 composti, possiede importanti proprietà antimicrobiche, antiossidanti e antiinfiammatorie sia *in vitro* che *in vivo*, motivo per cui questi composti sono di grande interesse per la salute umana. La struttura e la concentrazione delle singole molecole dipendono da numerosi fattori quali il tipo di cultivar, la regione in cui gli alberi crescono, la tecnica agronomica utilizzata, il livello di maturità delle olive al raccolto e la tecnica di produzione dell'olio.

Un altro parametro importante, da prendere in considerazione per valutare gli aspetti salutari dei vari tipi di olio evo, è la biodisponibilità di questi composti, ovvero il loro grado di assorbimento, metabolizzazione, distribuzione a livello dei tessuti ed eliminazione da parte del corpo umano. I due composti fenolici dei quali è stato dimostrato un elevato livello di assorbimento (40-94%) da parte dell'organismo umano sono l'idrossitirosolo e il tirosolo.

La stabilità di queste molecole come - d'altra parte - quella degli acidi grassi, è strettamente dipendente dalle condizioni di conservazione dell'olio; quelle ottimali prevedono basse temperature e ridotta esposizione alla luce e all'ossigeno. Il periodo di conservazione, entro il quale la concentrazione dei polifenoli rimane stabile, è stato stimato sui 12-18 mesi.

Molti di questi composti possiedono proprietà antimicrobiche, cioè inibiscono la crescita di determinati microrganismi. Tra di essi troviamo la carbossimetil oleuro-

peina aglicone e l'oleocanthal. L'idrossitiroso e il tirosolo si sono rivelati potenti agenti *in vitro* contro numerosi ceppi batterici responsabili di infezioni intestinali e respiratorie, quali *E.coli* 0157:H7, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella enteritidis* ed *Helicobacter pylori*. La presenza di quest'ultimo patogeno è associata all'insorgenza dell'ulcera peptica e allo sviluppo del cancro allo stomaco. Pare che la loro azione sia sinergica, cioè che si abbia una maggiore efficacia antimicrobica del loro insieme rispetto a quella delle singole molecole.

composti è incrementata da diversi agenti endogeni ed esogeni, quali l'infiammazione, lo stress psicofisico, il fumo di sigaretta, le radiazioni ultraviolette in genere, l'elevato consumo di alcool, l'esposizione ad ambienti inquinati, l'attività fisica intensa, una dieta eccessivamente ricca di proteine e di grassi animali e l'abuso di farmaci. L'organismo è fisiologicamente predisposto per fare fronte all'azione nociva dei radicali liberi, difendendosi con un proprio sistema anti-radicali. Questo prevede sia meccanismi enzimatici che l'intervento di sostanze attive che possono essere intro-

ATTIVITÀ FENOLICA DELL'OLIO EXTRAVERGINE D'OLIVA

Attività	Target
Antimicrobica	<i>Helicobacter pylori</i> , <i>Escherichia coli</i> , <i>Clostridium perfringens</i> , <i>Bacteroides</i> spp, <i>Streptococcus mutans</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Listeria monocytogenes</i> , <i>Yersinia</i> spp, <i>Salmonella enterica</i> , <i>Enterococcus faecium</i> , <i>Enterococcus faecalis</i> , <i>Shigella sonnei</i> , <i>Candida albicans</i>
Antiossidante	Attività antiossidante totale del plasma, GSH, GSH-Px, ossidazione delle cellule intestinali, renali e del sangue, ossidazione dei grassi, OxLDL, ROS, F2- isoprostanes, GSSG
Antiinfiammatoria	Caspasi-3, p53 (Ser15), NFκB, COX, INOS, TNFα, IL-1β, p90rsk, ERK1/2

Fonte: Cicerale et al., Current Opinion in Biotechnology, 2011. 23:1-7

Da molti anni si studiano la proprietà antiossidanti esercitate dai polifenoli nei confronti dei radicali liberi responsabili dello stress ossidativo a carico di importanti molecole biologiche. Questo è indotto da uno squilibrio fra la produzione di specie chimiche altamente reattive, i radicali liberi, e gli antiossidanti, le armi di difesa della fisiologia umana. Questo processo gioca un ruolo fondamentale nell'invecchiamento ed è correlato all'insorgenza di malattie croniche, quali quelle malattie cardiovascolari e il diabete. Il danno cellulare inizia a livello della membrana lipidica, per poi condurre ad un'alterata formazione dell'adenosintrifosfato (ATP, la molecola di riserva energetica cellulare per eccellenza), fino ad arrivare a modificazioni del Dna. Il danneggiamento ossidativo di quest'ultimo è alla base della cancerogenesi.

Le specie reattive dell'ossigeno (HO[•], radicale idrossile; O₂⁻, anione superossido; H₂O₂, perossido di idrogeno; ¹O₂, ossigeno singoletto) hanno un ruolo fondamentale nell'insorgenza del danno tissutale. Quello prodotto in maggior concentrazione è l'anione superossido, il quale reagisce con il perossido di idrogeno H₂O₂ (acqua ossigenata) per formare il potente radicale ossidrilico (o idrossile), HO[•]. La formazione questi

dotte con la dieta. Gli enzimi implicati in questo meccanismo sono la superossidodismutasi, la catalasi e il glutatione ridotto. Tra le sostanze attive vi sono la vitamina E, la vitamina C, i carotenoidi, i polifenoli e le antocianine. Quando la quantità di radicali liberi (indicati genericamente con R[•]) prodotta è superiore a quella neutralizzabile dal nostro sistema antiossidante, si innesta lo stress ossidativo a carico delle cellule, che inizia con l'attacco da parte dei radicali liberi ai lipidi poliinsaturi presenti nelle membrane biologiche. Ciò determina l'avvio della perossidazione lipidica (vedi box), un processo di deterioramento ossigeno-dipendente che porta alla distruzione delle membrane biologiche e alla formazione di lipoproteine ossidate, con produzione di perossidi lipidici e di sottoprodotti come le aldeidi. Queste ultime molecole sono caratterizzate da elevate stabilità e reattività che le rendono dannose verso altri costituenti presenti nella cellula, come gli acidi nucleici e le proteine, alterando così la funzionalità cellulare. Il principale prodotto della perossidazione degli acidi grassi poliinsaturi è la malondialdeide, CH₂(CHO)₂, in grado di reagire con la deossadenosina e deossiguanina nel Dna, formando composti mutageni, precursori della carcinogenesi.

Diversi studi hanno dimostrato che nell'uo-



LA PEROSSIDAZIONE LIPIDICA

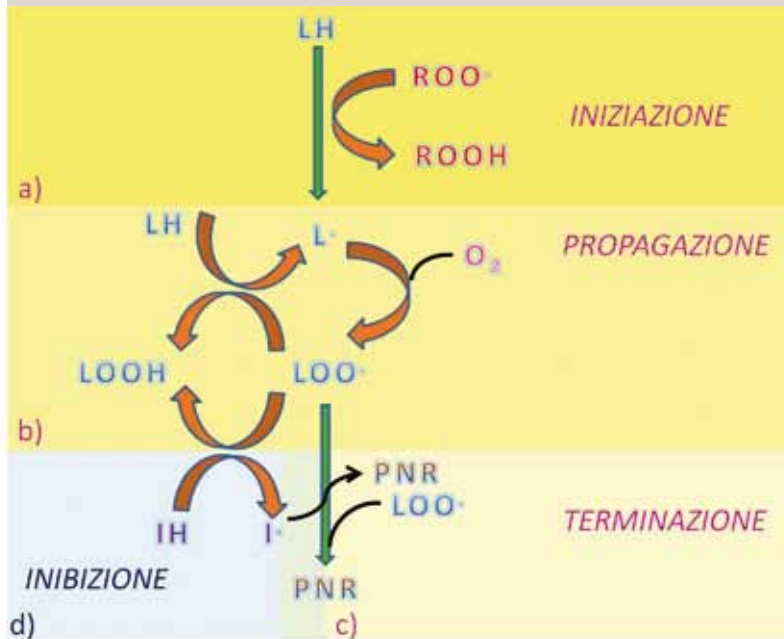
I tre stadi della perossidazione lipidica e relativa inibizione ad opera degli agenti antiossidanti.

a) Nella fase di iniziazione un radicale libero (ROO^{\bullet}) agisce sul gruppo metilenico coniugato ad un doppio legame nella catena dell'acido grasso insaturo (LH) staccando un atomo di idrogeno; come conseguenza sull'atomo di carbonio corrispondente si forma un radicale (L^{\bullet}).

b) Nella fase di propagazione, i radicali L^{\bullet} reagiscono velocemente con l'ossigeno molecolare O_2 , originando i radicali perossidici LOO^{\bullet} che, a loro volta, sottraggono un atomo di idrogeno ad un'altra molecola di acido grasso insaturo per formare un idroperossido ($LOOH$) e un altro radicale L^{\bullet} .

c) In fase di terminazione, i radicali liberi prodotti durante il processo di perossidazione reagiscono tra loro a formare prodotti non radicalici (PNR) inattivi.

d) È possibile inibire l'intero processo intervenendo nello stadio di propagazione con l'aggiunta di antiossidanti (IH) che vanno a reagire con i radicali perossidici LOO^{\bullet} , interrompendo le catene radicaliche. Un antiossidante, in genere, agisce donando atomi di idrogeno, con conseguente formazione di radicali liberi (I^{\bullet}) relativamente stabili.



mo l'assunzione di olio evo caratterizzato da una concentrazione fenolica superiore ai 592 mg/kg, determina *in vivo* una diminuzione del danno ossidativo al Dna superiore al 30%.

Importanti effetti antiossidanti sono stati dimostrati anche nei confronti dei lipidi. L'ossidazione delle lipoproteine a bassa densità (LDL, *low-density lipoproteins*, note anche come "colesterolo cattivo", in contrasto con le HDL, *high-density lipoproteins*, il "colesterolo buono") è considerata uno dei maggiori fattori di rischio per lo sviluppo di malattie cronico-degenerative come l'aterosclerosi. Sono stati individuati diversi meccanismi con i quali i polifenoli legano le LDL, sottraendole all'ossidazione da parte dei radicali liberi; inoltre studi *in vivo* condotti sull'uomo hanno dimostrato un decremento nell'ossidazione delle LDL associato all'incremento dei consumi

di olio extravergine d'oliva. Vi sono, inoltre, numerosi studi che sembrano mettere in luce anche un'attività antinfiammatoria da parte di questi composti (vedi tabella a pagina precedente).

Altri componenti

Tra i componenti polari dell'olio extravergine d'oliva troviamo i tocoferoli e gli alcoli. I primi sono antiossidanti naturali che inibiscono il processo di irrancimento del prodotto. Sono presenti in diverse forme; quella biologicamente più attiva, nota come vitamina E, costituisce circa il 90% del totale. Gli alcoli presenti nell'olio sono sia alifatici che triterpenici (i terpeni sono derivati dell'isoprene, idrocarburo naturale del metabolismo vegetale con cinque atomi di carbonio e due doppi legami, con formula bruta C_5H_8). Rivestono importanza analitica per la distinzione dei prodotti ottenuti mediante pressatura meccanica delle olive da quelli estratti con solventi.

Una piccolissima frazione della componente minoritaria dell'olio extravergine d'oliva è costituita da cere, aldeidi, esteri, chetoni e pigmenti colorati. Alcuni di essi sono composti coinvolti nella valutazione organolettica del prodotto, in quanto ne influenzano la nota aromatica e l'aspetto.

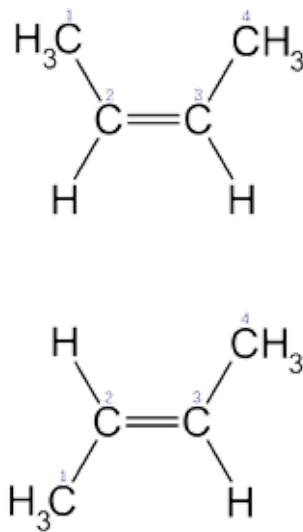
Le frodi alimentari

La sofisticazione dell'olio extravergine d'oliva rappresenta oggi una delle principali frodi alimentari a livello comunitario; oltre a comportare ingenti perdite economiche, espone i consumatori a gravi pericoli per la salute. Esiste tutta una serie di caratteristiche chimico-fisiche la cui difformità dai valori di legge, rilevabili con opportune tecniche analitiche chimiche, è indice di sofisticazione.

Il regolamento (CE) n. 2568/91 e successive modifiche, relativo alle caratteristiche degli oli d'oliva e di sansa d'oliva, individua i parametri da misurare e i metodi di analisi ad essi attinenti, riportati nei vari allegati della normativa. Questi prevedono l'utilizzo di particolari tecniche analitiche, tra le quali le più utilizzate sono la spettrofotometria UV e l'analisi gascromatografica. La prima permette di rilevare la presenza di composti con due (dieni, come l'1,3 butadiene, C_4-H_6), tre (trieni) o più legami doppi coniugati (cioè doppi legami tra carboni separati da uno singolo: $-C=C-C=C-$), valutando la K_{232} e K_{270} , rispettivamente l'assorbanza alla lunghezza d'onda di 232 e 270 nanometri che indica l'eventuale



Isomeria cis/trans delle molecole organiche con doppi legami. Non essendo in grado di ruotare, il legame C=C presenta geometria piana. Nelle molecole organiche come il 2-butadiene qui rappresentato, o negli acidi grassi oggetto della nostra discussione, possono formarsi due stereoisomeri, con caratteristiche chimico-fisiche talvolta molto diverse: quelli dove i due sostituenti dell'idrogeno dei carboni 1 e 4 si trovano entrambi dallo stesso lato del legame, detti "cis" (in alto), e quelli dove sono sui lati opposti, "trans" (in basso).



presenza di dieni e trieni a seguito di ossidazione o raffinazione dell'olio. Un altro parametro da analizzare è il ΔK , l'entità dell'assorbanza a 270 nm rispetto alla curva di assorbanza UV, che risulta elevata negli oli raffinati.

La spettrofotometria UV permette, quindi, di determinare se un olio d'oliva sia vergine o provenga da un processo di raffinazione. Nell'evo ottenuto dalla sola spremitura, i doppi legami degli acidi grassi insaturi non sono mai vicini, ovvero non ci sono doppi legami contigui; ma se si effettua un processo di raffinazione si possono verificare cambiamenti nella struttura dell'acido grasso. Per esempio nel processo di deacidificazione mediante l'aggiunta di idrossido di sodio (la comune soda, NaOH) si può verificare lo slittamento dei doppi legami. Nella decolorazione su terre attive di oli lampanti (acidità > 2,0%, inadatti al consumo umano) perossidati si ha la formazione di trieni coniugati e di composti chetonici, la cui curva di assorbanza presenta tre massimi a K_{270} . Lo slittamento dei doppi legami dovuto alla raffinazione comporta un assorbimento caratteristico all'ultravioletto: il parametro K_{270} presenta un picco in presenza di olio rettificato per la presenza di dieni formati per slittamento dei doppi legami (olio di sansa e semi). L'individuazione di caratteristici acidi grassi, quali il linoleico e il linolenico, è molto importante al fine di distinguere l'olio vergine da quello raffinato, in quanto questi hanno assorbimenti caratteristici all'UV dovuti rispettivamente ai due e tre doppi legami presenti. Altri trattamenti non soltanto danno un prodotto adulterato, ma anche deleterio per la salute umana. Nei trattamenti termici di deodorazione e di decolorazione con terre acidificate si verifica la conversione della configurazione degli acidi grassi, con formazione di isomeri *trans*.

Le conseguenze per la salute umana di chi consuma un prodotto ricco di acidi grassi *trans* sono molteplici e negative; tra le più gravi vi è sicuramente l'alterazione delle proprietà fisiologiche delle membrane cellulari, con conseguente compromissione dei processi di trasporto e di fluidità. Non meno importante è la diminuzione di acidi grassi essenziali con effetti negativi sulla

produzione di prostaglandine. Queste ultime regolano il tono muscolare delle pareti arteriose, la pressione del sangue, le funzioni renali e giocano un ruolo importante contro i processi infiammatori. Inoltre gli acidi grassi *trans* causano alterazioni nelle dimensioni e nel numero delle cellule adipose, nella composizione degli altri acidi grassi e accrescono i livelli sierici delle LDL (il "colesterolo cattivo").

La tecnica analitica utilizzata per individuare la presenza di isomeri *trans* negli oli extravergine d'oliva è la gascromatografia, cui si fa ricorso per la determinazione di eventuali contraffazioni che si rivelano a carico di diversi componenti dell'olio. L'analisi degli acidi grassi (trasformati nei relativi esteri metilici) permette di ottenere un cromatogramma con picchi ben visibili per tutti gli acidi grassi, anche per quelli presenti in tracce. Ciò è molto importante perché un olio extravergine d'oliva presenta un caratteristico profilo cromatografico e la sua eventuale variazione è indice di contraffazione del prodotto. Per esempio, la presenza di un picco associato all'acido elaidinico dopo quello oleico è indice di un olio prodotto non solo con spremitura meccanica (un semplice processo fisico di pressione), ma anche tramite processi chimici partendo da esterificati o da oli rettificati.

Al pari della spettrometria UV, anche l'analisi gascromatografica degli steroli permette l'individuazione di frodi alimentari dovute all'aggiunta di olio di colza o cartamo nell'olio extravergine d'oliva, così come valori più bassi di β -sitosterolo indicano la presenza di oli di semi.

Un altro parametro utile per scoprire eventuali frodi è il tenore di cere. Quando un olio d'oliva, venduto per extravergine, viene prodotto mediante processi di estrazione delle sansa con esano (alcano lineare con formula C_6H_{14}), si sciolgono nel solvente le cere presenti nelle bucce delle olive che possono essere rilevate mediante gascromatografia. Per evitare ciò, talvolta si cerca di rimuoverle con acetone, ma questo processo rilascia sostanze caratteristiche nell'olio, le quali possono essere individuate con questa tecnica analitica, smascherando l'uso di questo trattamento vietato per legge.

Tecniche antifrode innovative:

la rilassometria FFC-NMR

Per evidenziare le contraffazioni sempre più sofisticate degli oli d'oliva, da anni si studiano nuovi metodi analitici da affiancare a quelli ormai consolidati e previsti dalla normativa comunitaria per la lotta alle frodi alimentari. Tra le tecniche più innovative vi è la risonanza magnetica nucleare in rilassometria, la quale permette di ottenere informazioni diverse e complementari rispetto alla spettroscopia in risonanza magnetica nucleare (NMR). Infatti, mentre la prima permette di conoscere la struttura delle molecole (vedi *Green* n. 20, pagg. 10-15 e n. 21, pagg. 32-37), la rilassometria NMR consente di conoscerne la dinamica. Per esempio, studi condotti con tecniche di rilassometria a ciclo di campo (FFC-NMR, vedi box alla pagina successiva) su oli extravergine d'oliva hanno individuato la presenza di aggregati supramolecolari in cui i trigliceridi, i maggiori costituenti dell'olio extravergine d'oliva, sono disposti in micelle inverse, legati tra loro da deboli interazioni quali forze di van der Waals e legami a idrogeno (vedi figura). Questi studi hanno messo in evidenza come le code apolari degli acidi grassi siano disposte verso l'esterno, mentre le teste polari dei trigliceridi siano rivolte verso l'interno della micella e siano coinvolte in legami a idrogeno con i componenti minori dell'olio extravergine d'oliva di natura polare, quali i polifenoli, i carotenoidi e le clorofille. Proprio quest'ultimo tipo di legame contribuisce significativamente alla stabilità della struttura supramolecolare. Questi risultati hanno aperto le porte a studi su altri oli vegetali, la cui struttura supramolecolare a micelle inverse è del tutto simile a quella dell'olio d'oliva, nel tentativo di trovare applicazioni di questa tecnica nella lotta alle frodi alimentari e nella valutazione della qualità degli alimenti. Per esempio, nel caso degli oli di pistac-

chio - molto usati nell'industria dolciaria - è stato possibile differenziare tra quelli ottenuti da cultivar differenti e, nell'ambito della stessa varietà, sono stati riconosciuti oli ottenuti da piante coltivate in condizioni pedoclimatiche differenti. La rilassometria FFC-NMR ha persino evidenziato differenze nella dinamica molecolare di oli di pistacchio ricavati da semi seccati con tecniche differenti: all'aria o in stufa, a diverse temperature.

Tali risultati suggeriscono che le proprietà dinamiche degli oli dipendono dalla viscosità cinematica, la quale - a sua volta - è associata alle dimensioni degli aggregati dei componenti di tale matrice alimentare. Queste ultime, infine, dipendono dalle tecniche di produzione, dalle cultivar e dalle condizioni pedoclimatiche.

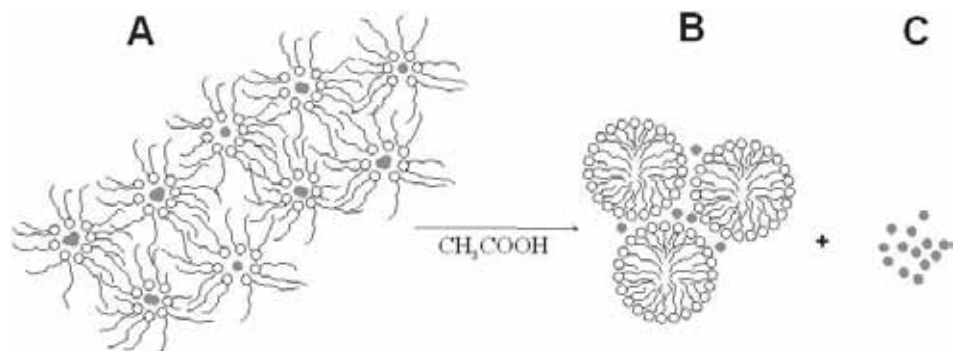
Sembra evidente, quindi, che la rilassometria FFC-NMR possa essere considerata uno strumento promettente per una rapida ed efficace valutazione della qualità degli oli alimentari, con l'enorme vantaggio di non richiedere lunghe e dispendiose procedure di estrazione e purificazione dei campioni, in quanto essi vengono analizzati tal quali. Inoltre, questa tecnica potrebbe diventare un importante strumento di controllo nella verifica dei prodotti a marchio garantito (DOP, IGP ecc.).

Potenziati applicazioni dell'olio evo

Da quanto finora riportato, è evidente che la rilassometria FFC-NMR può essere molto importante per capire i processi di assorbimento degli alimenti e il loro metabolismo nel corpo umano.

Potremmo in qualche modo comparare la struttura supramolecolare dell'olio alla struttura terziaria della proteina? La struttura terziaria è la disposizione tridimensionale nello spazio della catena polipeptidica. Sono le sequenze amminoacidiche a differenziare una proteina dall'altra, ma un enzima non potrebbe mai svolgere la sua funzione se non fosse disposto spazialmente in un determinato modo, non potrebbe mai accogliere

Struttura delle micelle inverse, tipiche degli oli vegetali, e loro inversione per effetto dell'addizione di acido acetico. A: aggregati supramolecolari di trigliceridi organizzati in micelle inverse. B: micelle di trigliceridi dopo addizione di acido acetico. C: componenti idrofile (polari) degli oli.
[Immagine: Conte et al., *Fresenius Environmental Bulletin*, 2010, 19 (9b) 2077-2082, per gentile concessione degli autori]

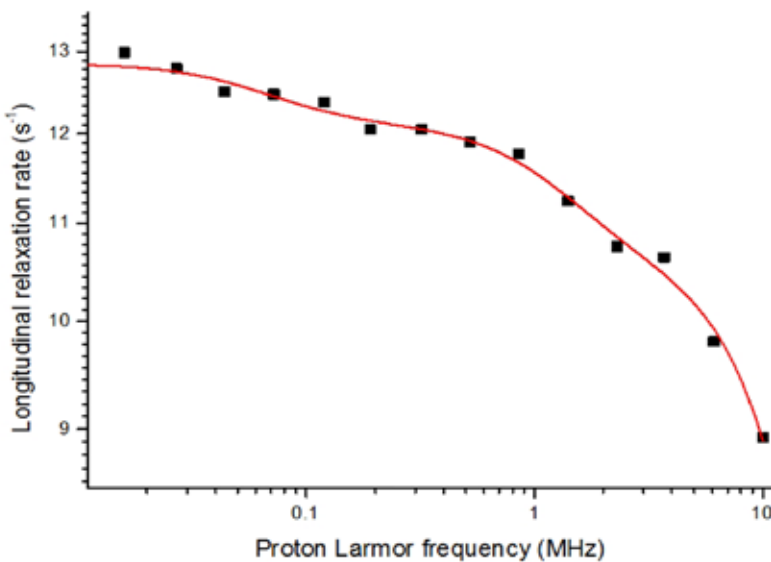


LE BASI TEORICHE DELL'FFC-NMR

La rilassometria a ciclo di campo, abbreviata in rilassometria FFC-NMR dall'anglosassone *fast field cycling NMR relaxometry*, è una tecnica che ha trovato grande applicazione nello studio della mobilità dei sistemi liquidi viscosi o confinati in mezzi porosi.

Le molecole che compongono i liquidi sono soggette a movimenti casuali influenzati dalle interazioni intermolecolari con altre molecole nello stato liquido o con le superfici dei mezzi porosi in fase solida. La distribuzione delle frequenze del movimento delle molecole in fase liquida dipende dall'omogeneità e dalla forza con cui si modulano le interazioni appena citate. Per esempio, un liquido confinato in pori di piccola dimensione è più limitato nei movimenti di quello che si muove liberamente in spazi più ampi. Le distribuzioni dei campi magnetici (DCM) generati dalle fluttuazioni molecolari sono responsabili della dispersione dei tempi di rilassamento longitudinale (detto anche rilassamento spin-lattice o spin-reticolo, T_1) che si verifica quando ogni frequenza del DCM corrisponde alle frequenze di Larmor (ω_L) dei nuclei osservati.

Il liquido, sia in fase liquida che assorbito nei mezzi porosi, può interagire anche con sistemi paramagnetici. La modulazione del campo magnetico dipolare locale generato dal paramagnetismo contribuisce ulteriormente al rilassamento spin-lattice. In particolare, se una molecola è immobilizzata il suo rilassamento longitudinale risulterà più veloce rispetto a quello di una molecola analoga con un numero maggiore di gradi di libertà traslazionali e rotazionali.



Tipico profilo FFC-NMR di un olio extra vergine di oliva. Si riporta il valore della velocità di rilassamento longitudinale (ovvero dell'inverso del tempo di rilassamento longitudinale) in funzione dell'intensità del campo magnetico applicato. L'interpolazione dei punti sperimentali consente di ottenere il tempo di correlazione che viene definito come il tempo necessario per la ri-orientazione molecolare (ovvero il tempo necessario a che una molecola ruoti di 1 rad o percorra una distanza pari alla sua lunghezza).

il suo ligando se la sua struttura terziaria non fosse rispettata. Le micelle inverse formate dai trigliceridi dell'olio evo, grazie alla loro particolare configurazione spaziale, potrebbero trovare un uso ipotetico come "contenitore" per veicolare sostanze polari dentro una matrice lipidica. Si aprirebero nuovi scenari per applicazioni farmaceutiche e cosmetiche; l'extravergine, alimento nutraceutico per eccellenza, potrebbe essere aggiunto con l'aggiunta di sostanze idrosolubili importanti per la salute umana, aumentando ancora le sue proprietà benefiche. Naturalmente questa applicazione potrebbe essere estesa anche ad altri oli alimentari e trovare largo uso nel campo della cosmetica. Le creme, infatti, sono generalmente costituite da emulsioni, ovvero miscele eterogenee di due liquidi immiscibili di cui uno (fase interna o dispersa) è disperso sot-

to forma di piccolissime gocce in un altro (fase esterna o disperdente), il tutto viene stabilizzato dall'aggiunta di opportuni tensioattivi o emulsionanti.

Esistono due tipi di emulsioni: il tipo "olio in acqua" (O/A), in cui vi è una fase continua idrosolubile ed una o più fasi liposolubili disperse, e il tipo "acqua in olio" (A/O) in cui la fase continua è liposolubile e la fase dispersa è costituita da una o più fasi idrosolubili. Le creme cosmetiche sono generalmente costituite da emulsioni A/O con una componente lipidica elevata, che le rende più affini all'olio per quanto riguarda la loro azione depurante ed emolliente e, data la loro consistenza cremosa, sono di più facile applicazione, e forniscono una protezione più elevata grazie al carattere idrofobico. Alla luce di quanto detto, appare evidente che in ambito cosmetico e farmaceutico l'utilizzo di emulsioni è legato dall'esigenza di veicolare in un solo prodotto sia molecole polari che apolari, adattando nel contempo il pH alle condizioni fisiologiche della pelle (4,5-5,5), mediante aggiunta di acido lattico o acido citrico. Un esempio sono le vitamine, oggi largamente utilizzate nei prodotti cosmetici e farmaceutici. Tra quelle liposolubili, le più usate sono le vitamine A, D, E e K; mentre l'acido ascorbico, la riboflavina, il pantenolo, la biotina, l'acido folico e la vitamina B₁₂ sono le più utilizzate tra quelle idrosolubili (vedi *Green* n.18 pagg. 36-49).

Poiché mezzi a base lipidica sono più idonei per la realizzazione di creme e pomate ad uso cosmetico, grazie alla miglior azione depurante ed emolliente, potrebbe essere molto interessante provare a introdurre direttamente in oli con micelle invertite - come l'olio di mandorla dolce o di altri semi già largamente impiegati in ambito cosmetico - i principi attivi di diversa natura, evitando così l'uso di tensioattivi o emulsionanti.

Un altro esempio di sostanze idrosolubili che potrebbero essere introdotte in lozioni oleose, quali per esempio quelle per la cura delle mani, sono i condensati di proteine (formati essenzialmente da miscele di proteine e basi detergenti) che proteggono la pelle dalle irritazioni dovute ad alcuni componenti di detersivi per stoviglie; essi inoltre stimolano la pelle a ricostituire i tessuti e gli aminoacidi dello strato corneo e sono meno aggressivi sulla cute, non presentando un potere fortemente sgrassante come quello dei tensioattivi a base di solfati o solfonati.

Gabriella Butera
Anna Micalizzi
 Unità di Ricerca Palermo-2
 Consorzio INCA