



UNIVERSITÀ
DEGLI STUDI
FIRENZE

DICUS
DIPARTIMENTO DI CHIMICA
"UGO SCHIFF"

CERM • CIRMMP INFRASTRUCTURE

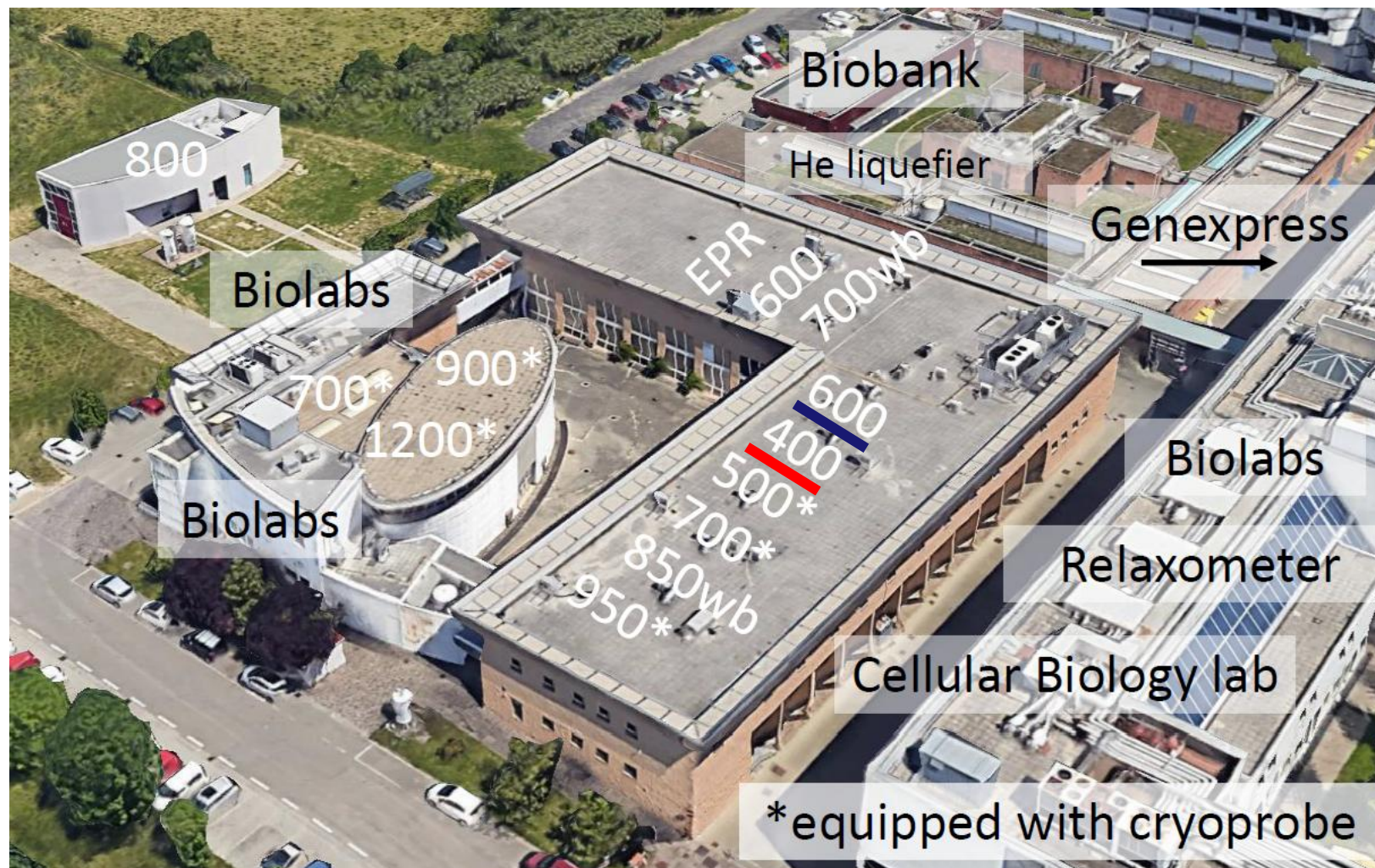
RISONANZE DI QUALITÀ: L'ANALISI NMR E IL LEGAME TRA OLIO D'OLIVA E TERRITORIO

Claudio Luchinat

Gaia Meoni

ABOUT US

CENTRO DI RISONANZE MAGNETICHE @ UNIFI (VALORE DI RIMPIAZZO DELLA STRUMENTAZIONE: CA. 50 M€)



**400 MHZ
DEDICATO ALLE
ANALISI DI MATRICI
ALIMENTARI**

**600 MHZ
DEDICATO ALLA
ANALISI DI BIOFLUIDI
E IN PARTE ANCHE
ALLE ANALISI DI
MATRICI ALIMENTARI**



CERM
Centro Risonanze
Magnetiche
FIRENZE



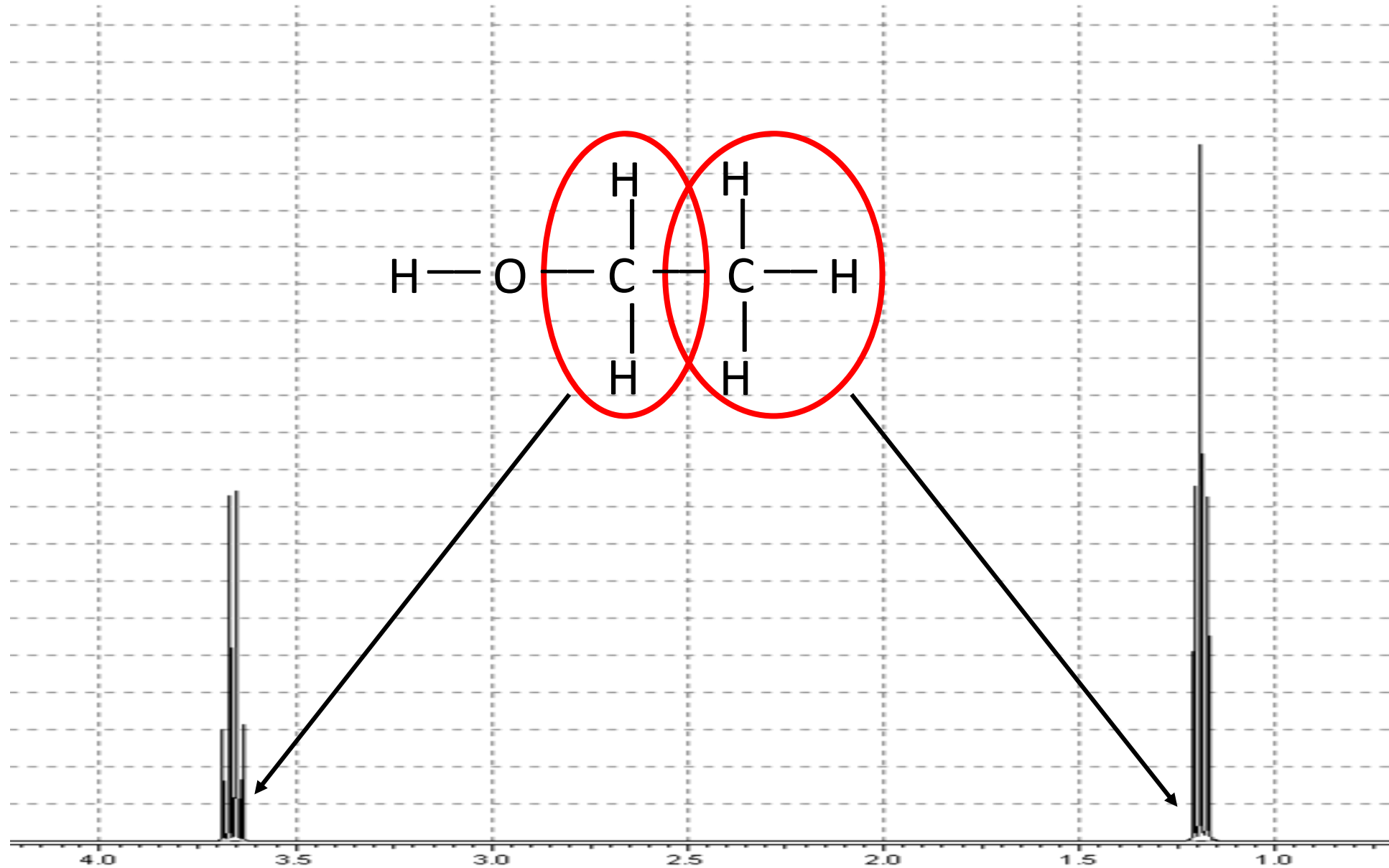


Spettrometro NMR
600 MHz con
SampleJET, Bruker

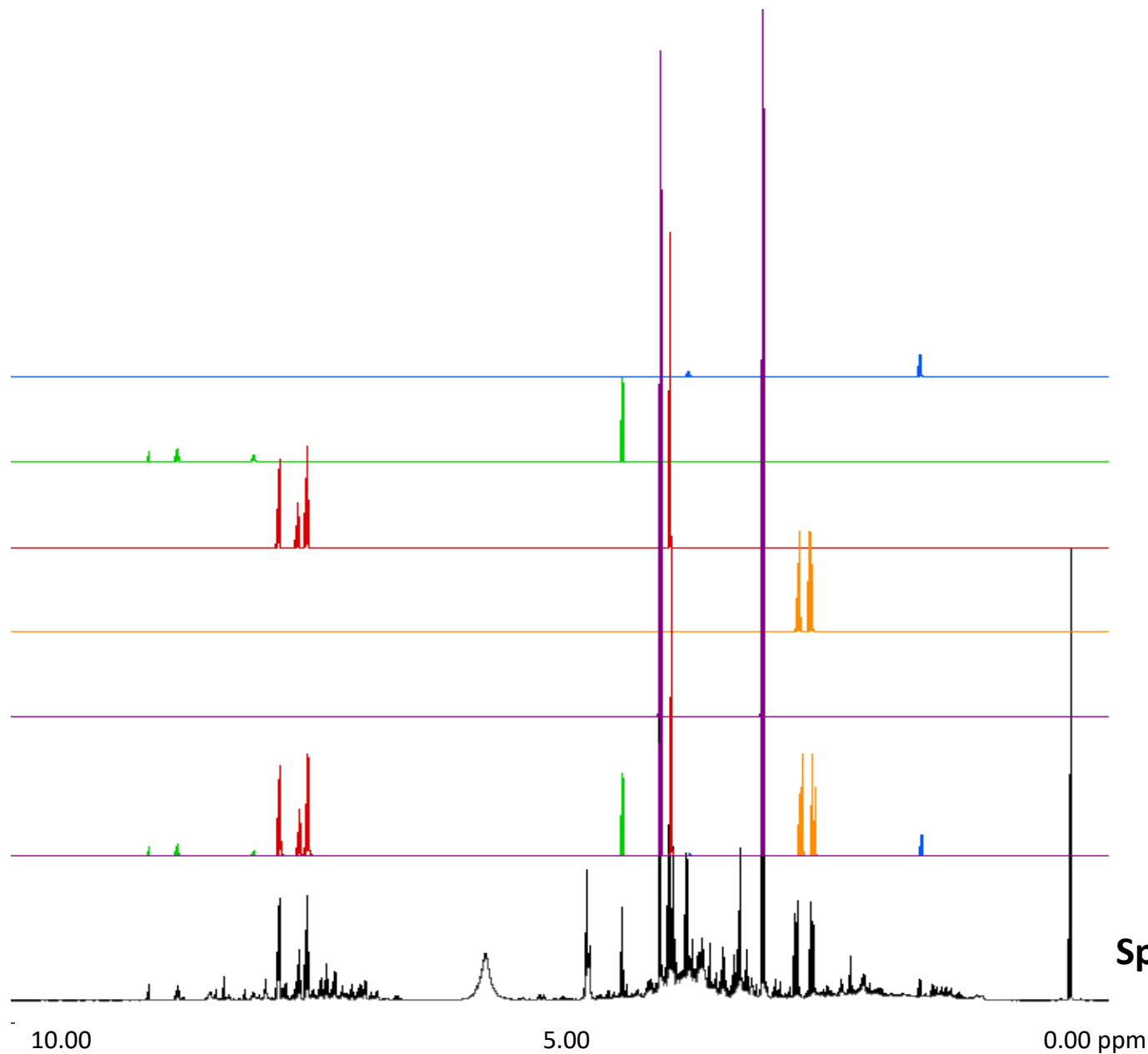


Spettrometro NMR 400
MHz con Sample Track,
Bruker

Spettro ^1H NMR dell'etanolo



Spettro ^1H NMR di una miscela



Alanina

Trigonellina

Acido ippurico

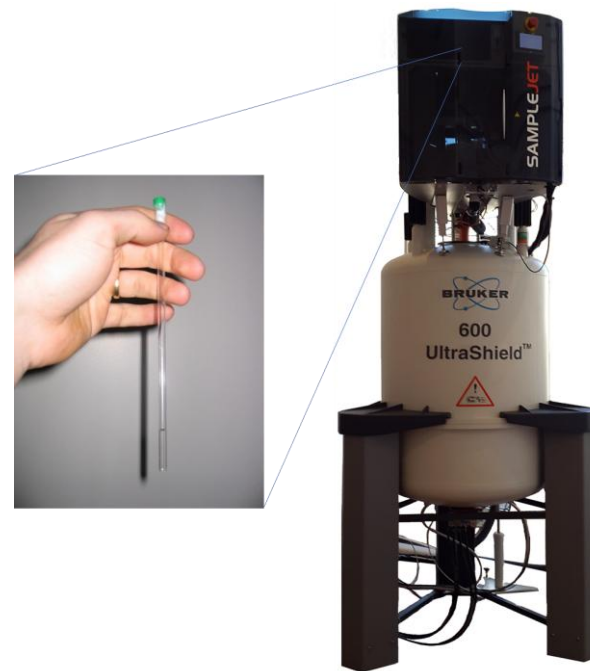
Citrato

Creatinina

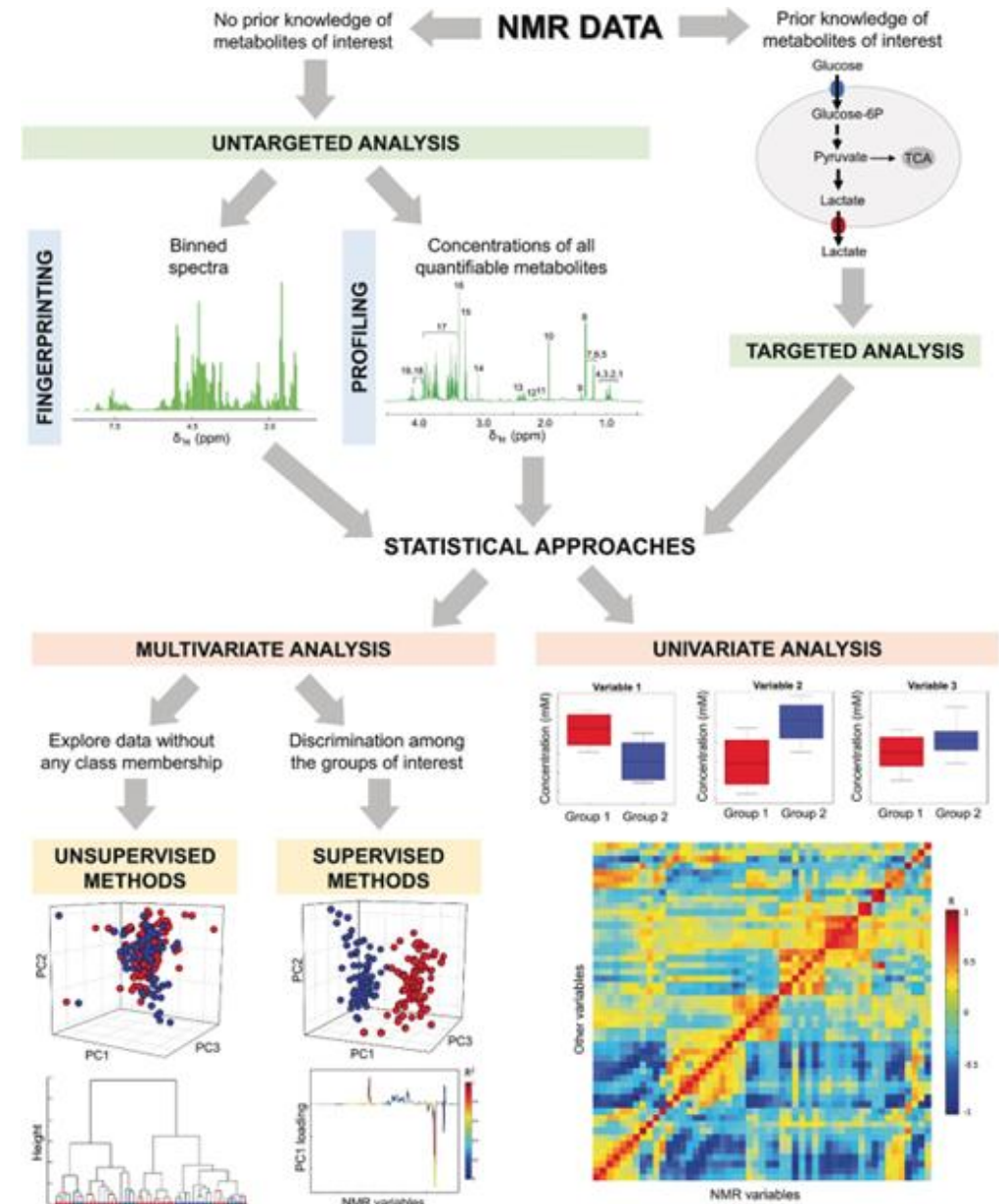
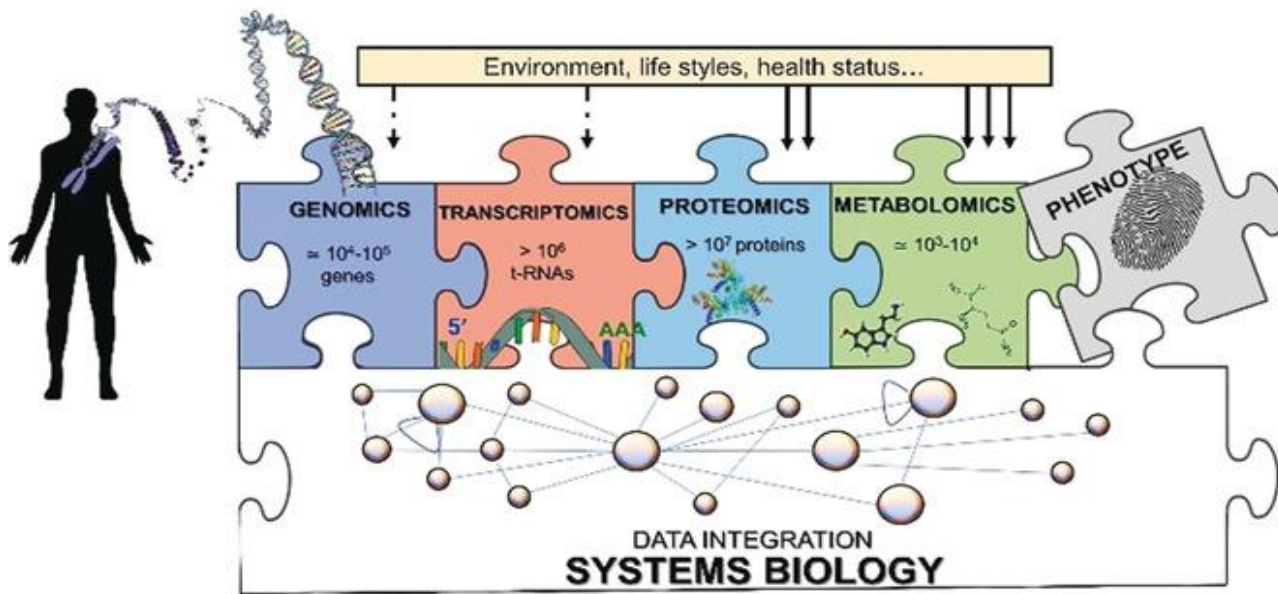


Spettro della
miscela

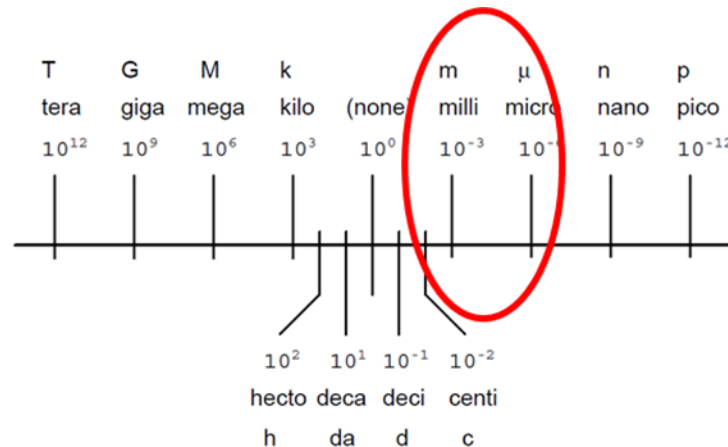
**Spettro di un campione
di urina**



NMR E METABOLOMICA



- ☐ Molto riproducibile
- ☐ Quantitativa
- ☐ Rapida
- ☐ Non distruttiva
- ☐ Semplice e minima preparazione del campione
- ☐ Sensibile (limite nell'ordine μM)



A. Vignoli, V. Ghini, **G. Meoni***, C. Licari, P. G. Takis, L. Tenori, P. Turano, C. Luchinat, Angew. Chem. Int. Ed. **2019**, 58, 968.

V. Ghini, **G. Meoni***, A. Vignoli, F. Di Cesare, L. Tenori, P. Turano, C. Luchinat, Progress in Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy, **2023**, 138-139, 105-135.

Aspetti metodologici:

- Standard operating procedures
- Biobanca
- Metodi NMR
- Metodi statistici

Metabolismo umano e cellulare:

- **Fingerprint metabolico individuale**
- Risposta al trattamento di farmaci

Oncologia:

- Cancro al seno
- Cancro al polmone
- Cancro coloretale
- Melanoma

Malattie cardiovascolari:

- **Insufficienza cardiaca**
- Infarto del miocardio
- Ischemia
- Rischio cardiovascolare

Malattie correlate al glutine:

- Celiachia atrofica e potenziale
- Sensibilità al glutine non celiaca

Malattie infettive:

- COVID-19 (NMR International COVID-19 Research Network)
- Virus dell'epatite B e C

Altre malattie:

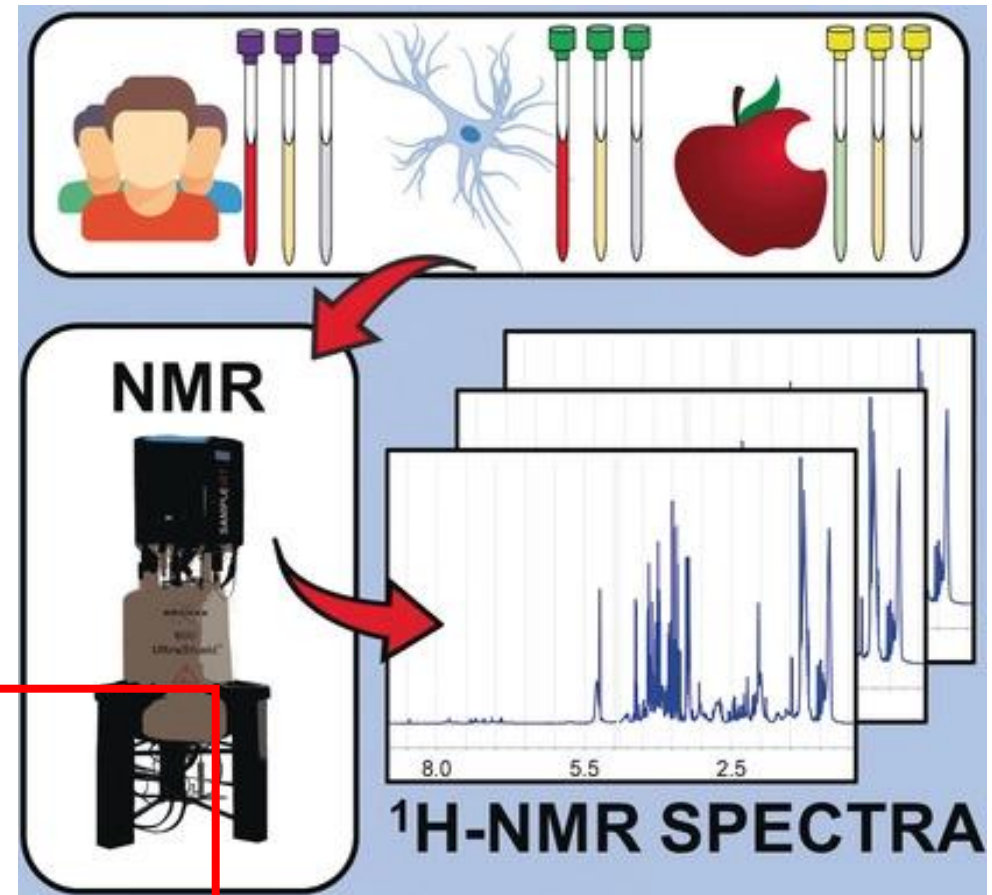
- COPD
- CIRDs
- CBP
- Periodontite
- Obesità
- Diabete gestazionale
- Sindrome di down
- Patologie vederinarie

Malattie neurologiche:

- Alzheimer
- Parkinson

Cibo e nutrizione:

- **Latte**
- **Olio d'oliva**
- Vino
- Frutta e verdura
- Caffè
- Estratti di composti bioattivi e probiotici



LA NOSTRA RICERCA SUGLI ALIMENTI



Olio d'oliva

Oli vegetali

Olive



Latte animale

Latte in polvere



Bevande a base
veg.



Caffè



Vino



Pesche

Pomodori

400 MHz

BBI 400 S1 H-BB-D-05 Z



600MHz

5 mm PATXI 1H-13C-15N



Obiettivi



**Terroir, origine geografica,
tracciabilità**



Qualità



Studio degli effetti della lavorazione



Conservazione e stoccaggio

NMR e OLIO D'OLIVA



Computational and Structural Biotechnology Journal

journal homepage: www.elsevier.com/locate/csbj

Research Article

NMR-based metabolomic approach to estimate chemical and sensorial profiles of olive oil

Gaia Meoni^{a,*}, Leonardo Tenori^a, Francesca Di Cesare^a, Stefano Brizzolara^b, Pietro Tonutti^c, Chiara Cherubini^d, Laura Mazzanti^e, Claudio Luchinat^d

Spettro ¹H NMR di olio d'oliva al 400MHz, assegnamento dei picchi e quantificazione delle molecole

Analisi chimiche standard per la qualità

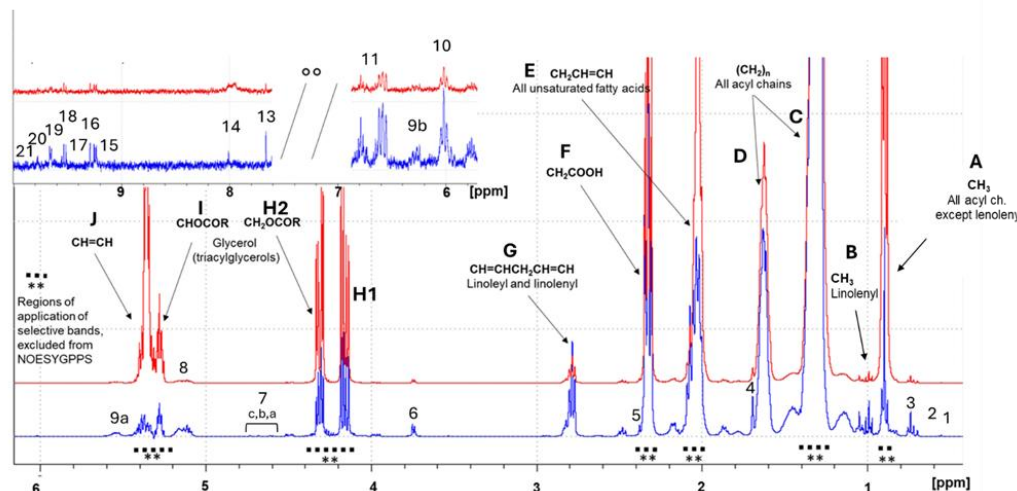


- Molto tempo preparazione
- Elaborato
- Grandi quantità di campione e solvente



Analisi NMR

- Tanti campioni/risultati con una sola misura
- Riproducibilità
- Poco materiale per l'Analisi



Acidi grassi e lipidi:

- **Linoleic** – acido grasso polinsaturo, ω-6
- **Linolenic** – acido grasso polinsaturo, ω-3
- **Oleic** – acido grasso monoinsaturo
- **SFA** – acidi grassi saturi
- **MUFA** – acidi grassi monoinsaturi
- **PUFA** – acidi grassi polinsaturi
- **1,2 MG +1,3 DG** – Mono- e Di-gliceridi di acidi grassi

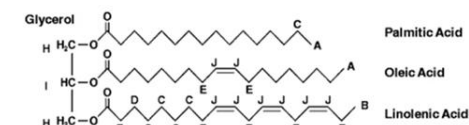
Steroli e derivati sterolici:

- **Cycloartenol** – sterolo ciclico (precursore dei fitosteroli)
- **Δ7 sterols** – gruppo di steroli con doppio legame in posizione 7
- **β-Sitosterol** – fitosterolo, molto simile al colesterolo

Composti fenolici e secoiridoidi:

- **Oleuropein** – secoiridoide glicosilato
- **Oleacein (3,4-DHPEA-EDA)** – derivato fenolico della decarbossimetilazione dell'oleuropeina
- **Oleocanthal (p-HPEA-EDA)** – aldeide fenolica
- **Oleokoronal** – composto simile ad oleacein,
- **1-(S)-(E)-elenolide** – lattoni derivati da secoiridoidi
- **Elenolic acid** – acido derivato dalla degradazione dell'oleuropeina

Trigliceride



$$\text{Linolenic ac.} = B/(A+B)$$

$$\text{Linoleic ac.} = ((3xG)-(4xB))/(3xF)$$

$$\text{PUFA} = \text{linoleic} + \text{linolenic}$$

$$\text{Oleic ac. (MUFA)} = (E/(2xF)) - \text{linoleic} - \text{linolenic}$$

$$\text{SFA} = (A/(A+B)) - \text{linolenic} - \text{linoleic} - \text{oleic}$$

$$\frac{\text{mol}}{\text{mol}_{TG}} \% = \frac{Ix \cdot 6}{IaCH_2 \cdot Hx} \cdot 100$$

Equation 1. I=Area of the peak; x=metabolite of interest; H=n° of protons.

Terpeni e triterpeni:

- **Squalene** – triterpene (precursore nella biosintesi degli steroli)
- **Terpene1, Terpene2, Terpene3** – genericamente terpeni, idrocarburi insaturi derivati da unità isopreniche

Aldeidi e composti carbonilici:

- **Formaldehyde** – aldeide semplice (CH₂O)
- **(E)-2-alkenals** – aldeidi α,β
- **Alkenals** – aldeidi insature, derivati lipidici secondari

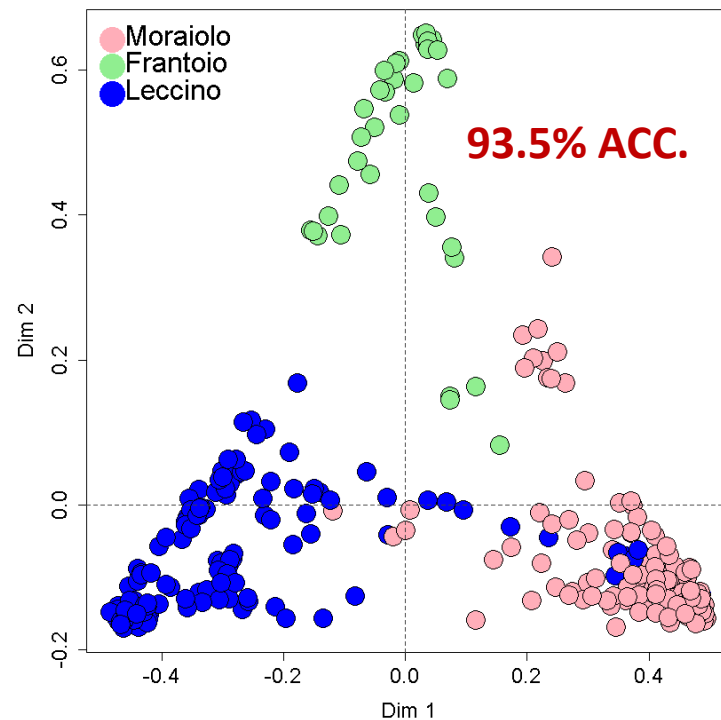
Attributi sensoriali:

Amaro, Piccante, Dolce, Gradevolezza Globale...etc

FINGERPRINT ^1H -NMR (IMPRONTA CHIMICA)

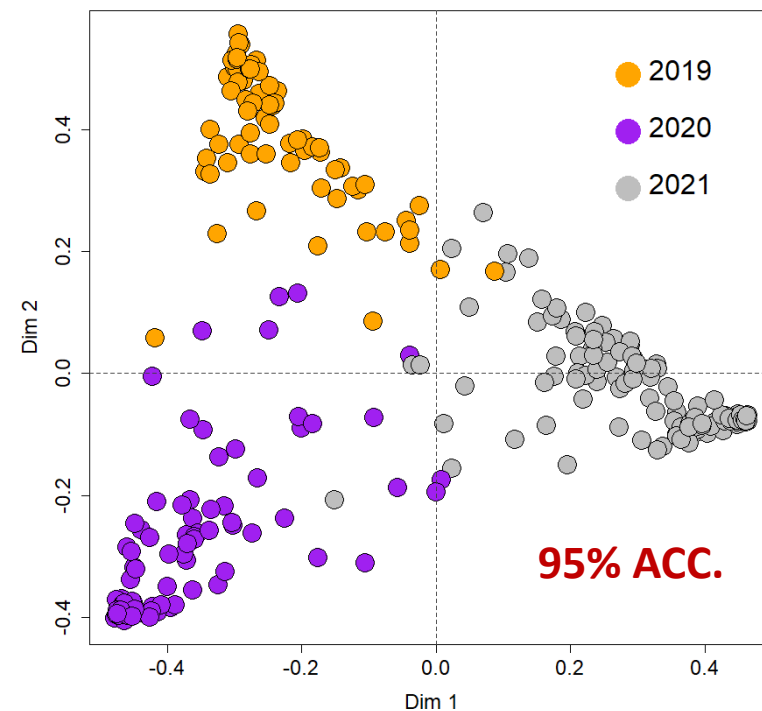


1) DETERMINAZIONE CULTIVAR



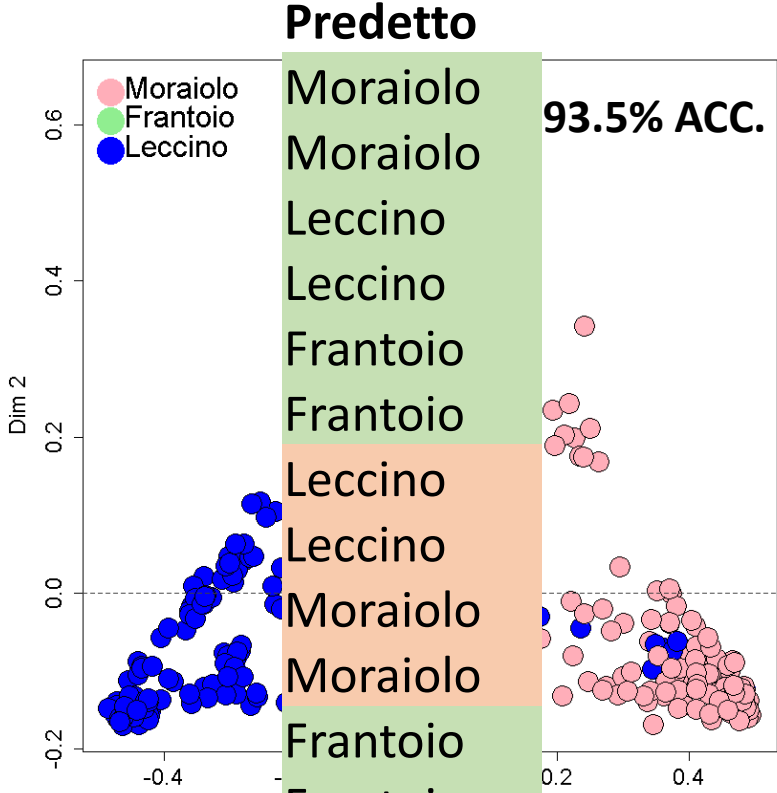
	LECCINO	MORAILOLO	FRANTOIO
LECC.	92	8	0
MORA.	4.3	94.5	1.2
FRAN.	0	3.7	96.3

2) DETERMINAZIONE ANNO DI RACCOLTA



	2020	2019	2021
2020	92.1	1.6	6.3
2019	1	98	0.9
2021	3.8	0.3	95.8

CARATTERIZZAZIONE DELLA CULTIVAR - CLASSIFICAZIONE



	LECCINO	MORAILO	FRANTOIO
LECC.	5.1	0	0
MORA.	4.3	94.5	1.2
FRAN.	0	3.7	96.3

n°camp.	Prod.	Dichiarato
05A	1	Moraiolo
05B	1	Moraiolo
06A	1	Leccino
06B	1	Leccino
07A	1	Frantoio
07B	1	Frantoio
22A	2	Frantoio
22B	2	Frantoio
25A	3	Leccino
25B	3	Leccino
26A	4	Frantoio
26B	4	Frantoio
27A	4	Leccino
27B	4	Leccino



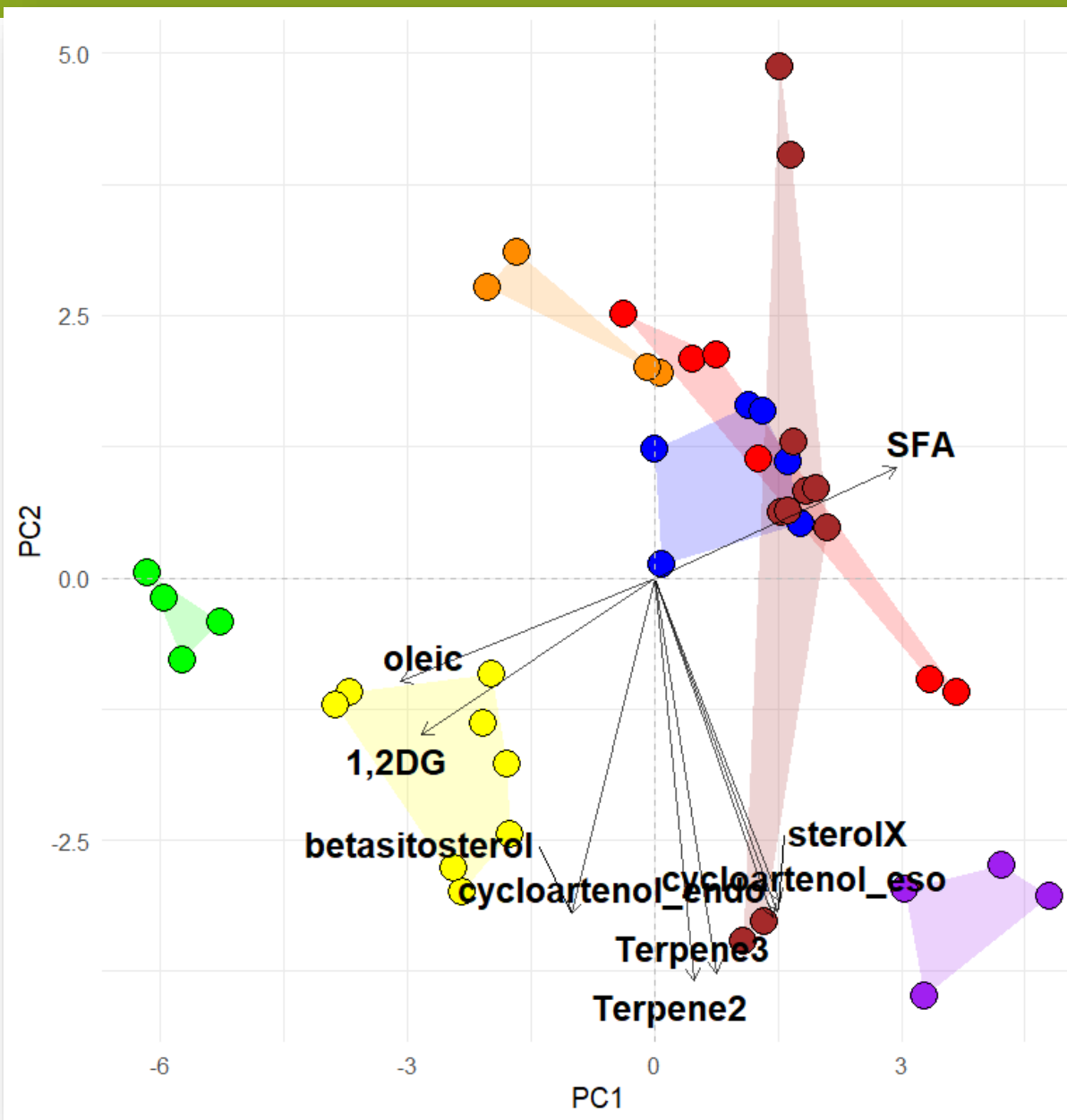
Areale	n°lotti
Chianti	13
Val Tiberina	8
Amiata	4
Maremma	10
Pitigliano	5

40 produttori/campioni EVOO - GEOEVO

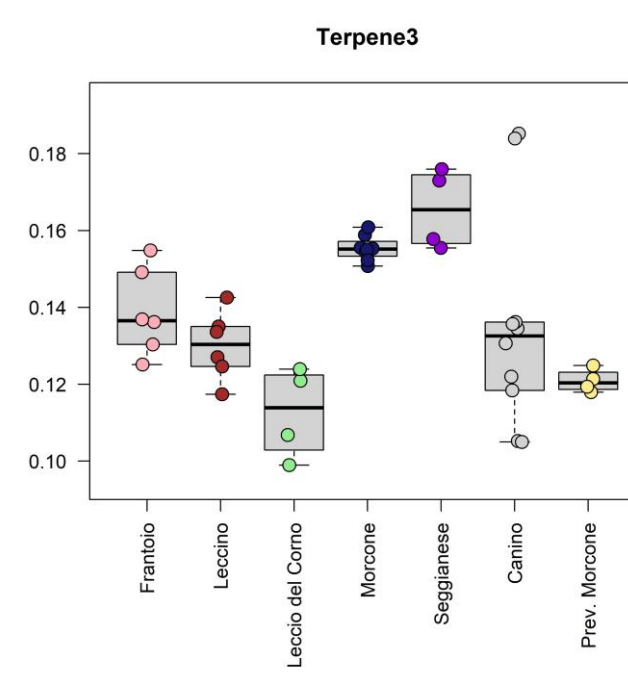
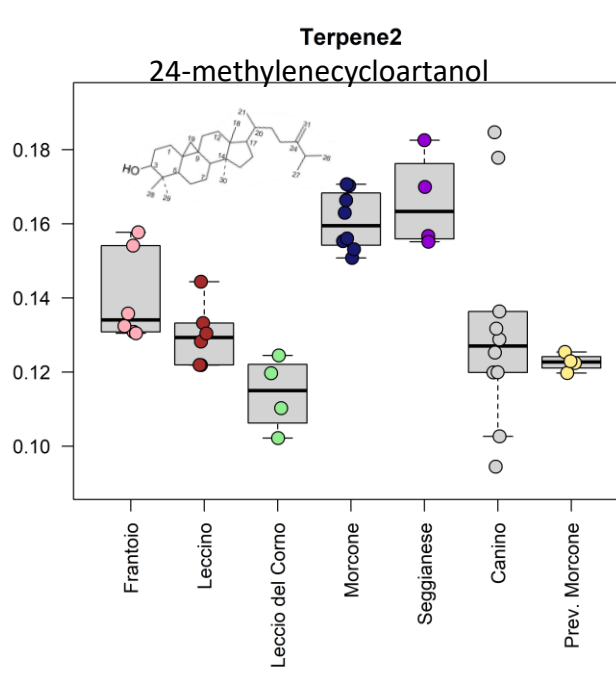
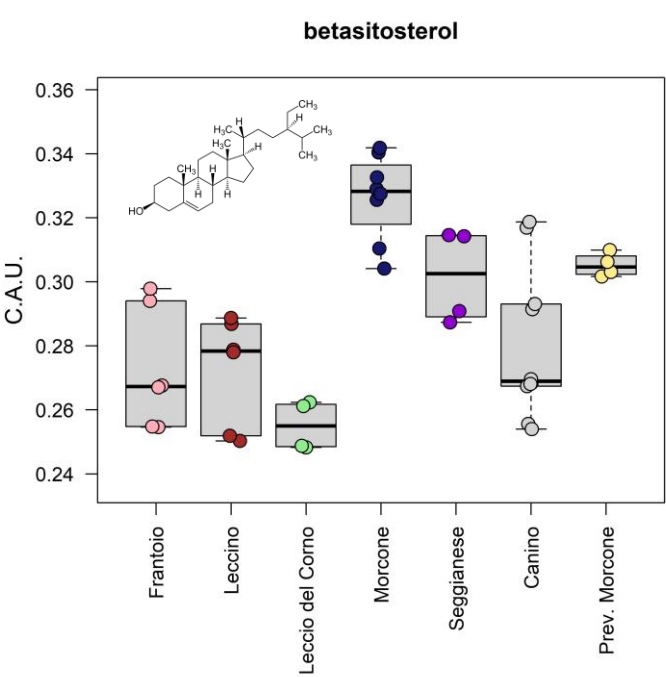
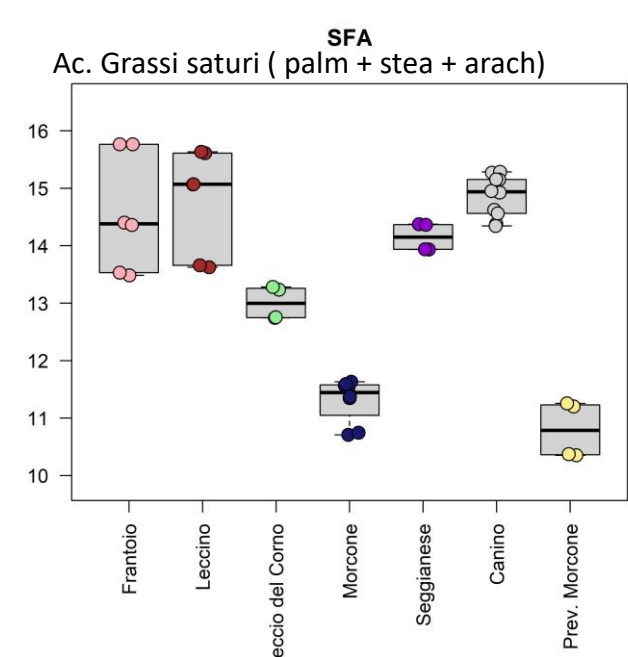
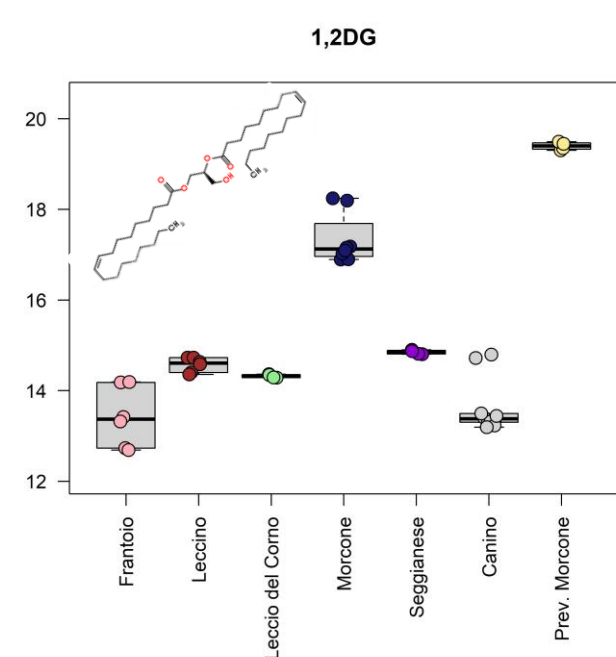
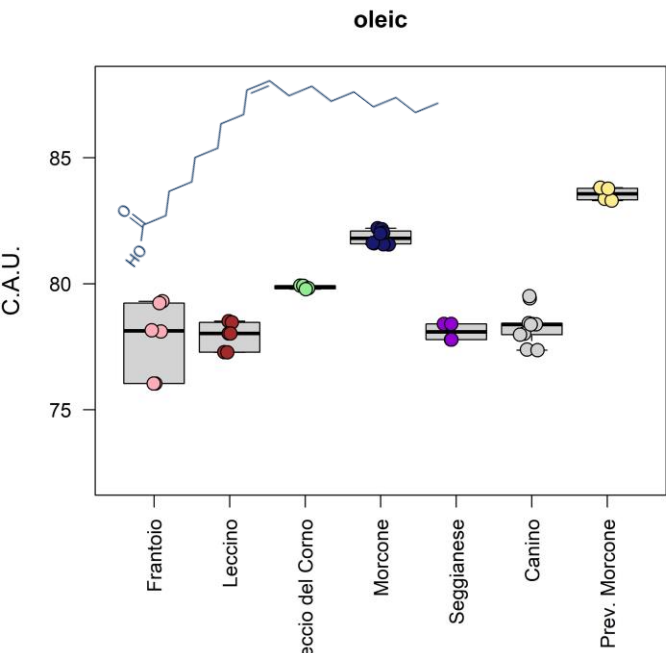
Cultivar	n° lotti
Misto	12
Leccino	3
Moraiolo	1
Frantoio	3
Coreggiolo	1
Leccio del Corno	2
Morcone	3
Prevalenza Morcone	2
Seggianese	2
Maurino	1
Canino	5
NA	4

CARATTERIZZAZIONE DELLA CULTIVAR

- Leccino
- Frantoio
- Prevalenza Morcone
- Seggianese
- Leccio de Corno
- Canino
- Morcone



CARATTERIZZAZIONE DELLA CULTIVAR



- Acido oleico (C18:1)**
- Varietà;
 - Zona (clima/terreno)
 - Raccolta precoce
 - Oli più stabili
- 1,2-Diacilgliceroli (1,2-DG)**
- Olio fresco
 - Estrazione a basse T.
 - Raccolta precoce
 - Oli vergini di qualità

- Ac. Grassi Saturi**
- Oli dal sapore più grasso, ceroso
- Beta-sitosterolo**
- Predominante in OO
 - Qualità e freschezza

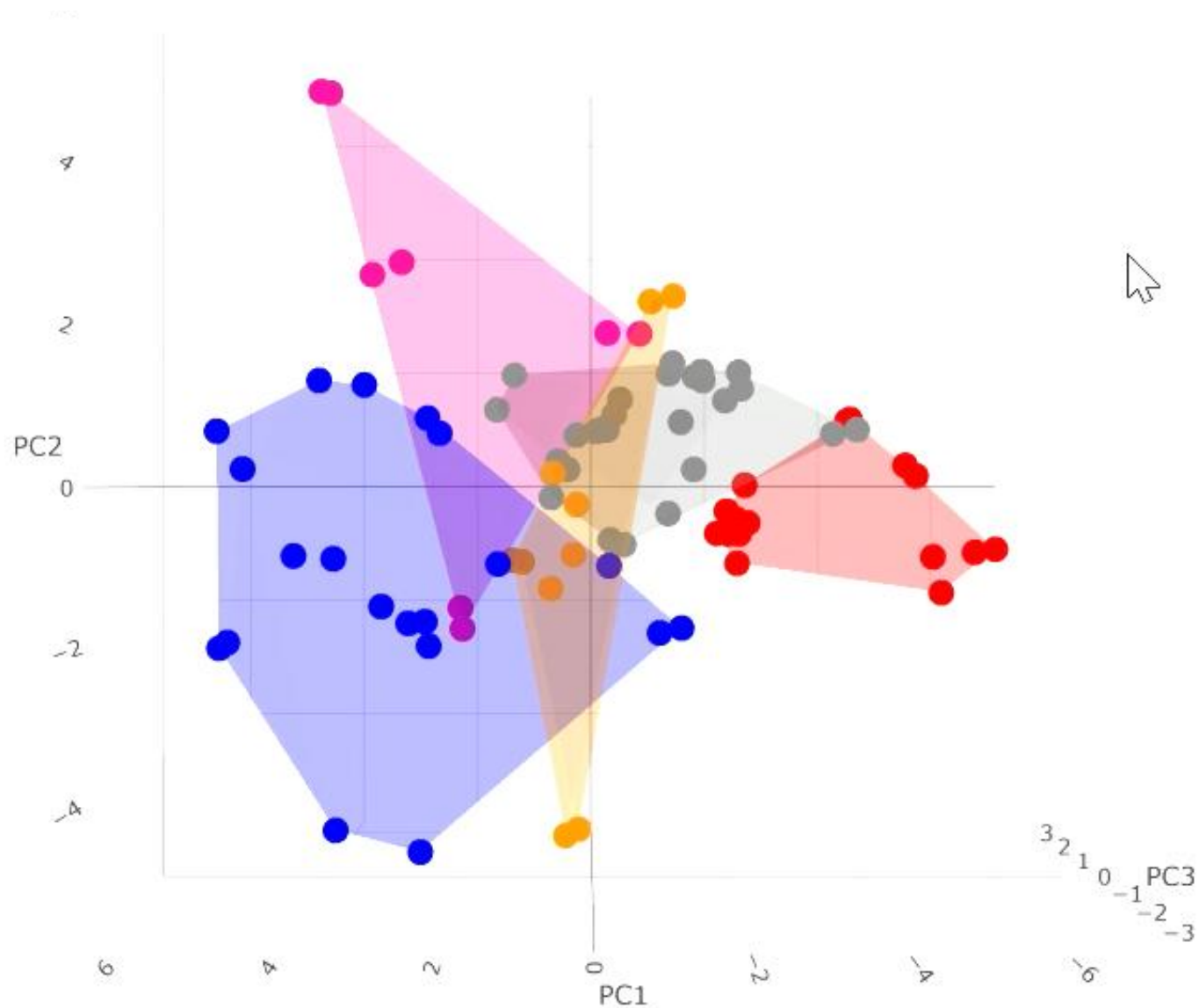
- 24-methylene cycloartanol**
- Antiossidante
 - Possibili note vegetali

*CAU = mol/molTG

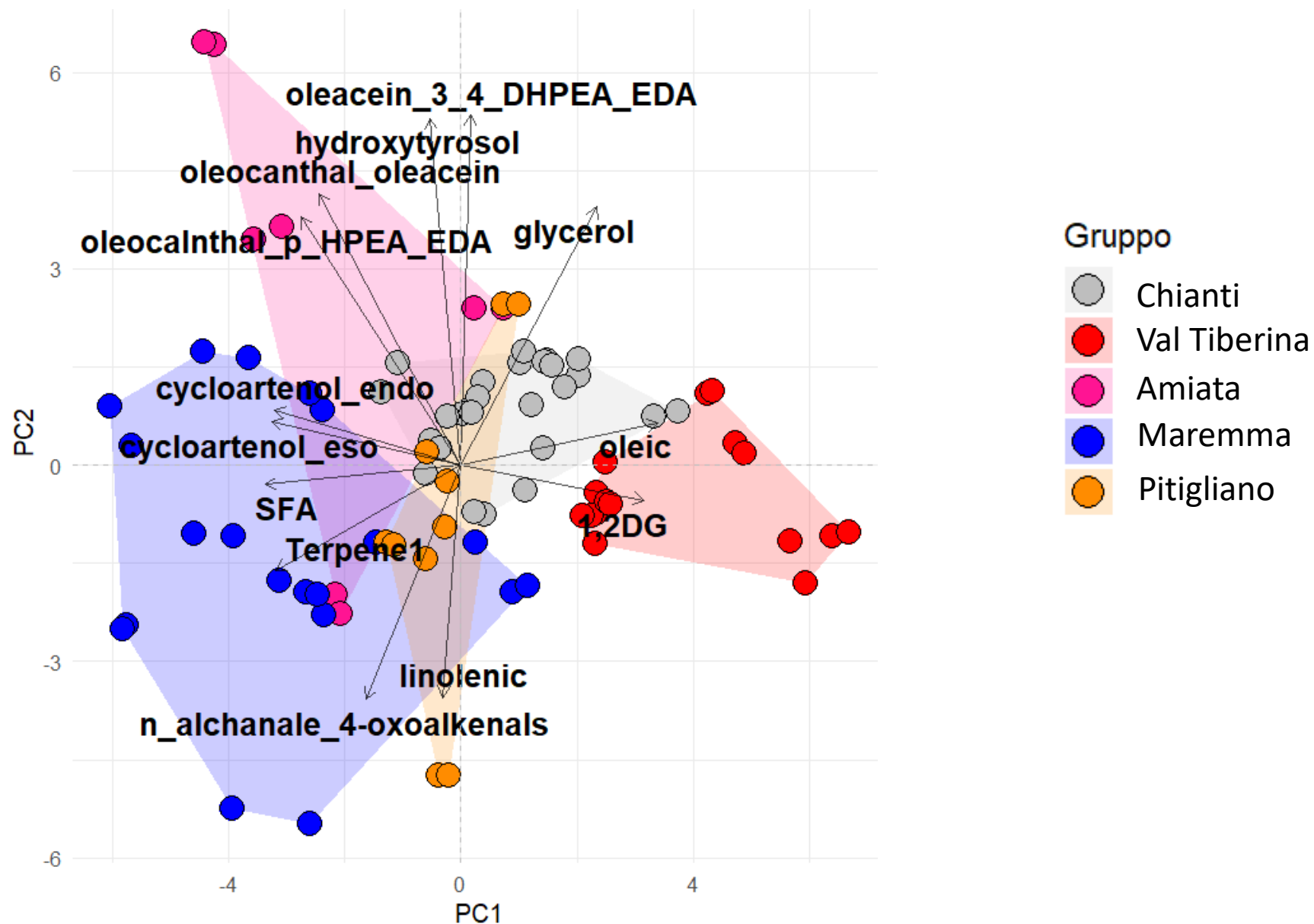
CARATTERIZZAZIONE DELL' AREALE

Areale	n°lotti
Chianti	13
Val Tiberina	8
Amiata	4
Maremma	10
Pitigliano	5

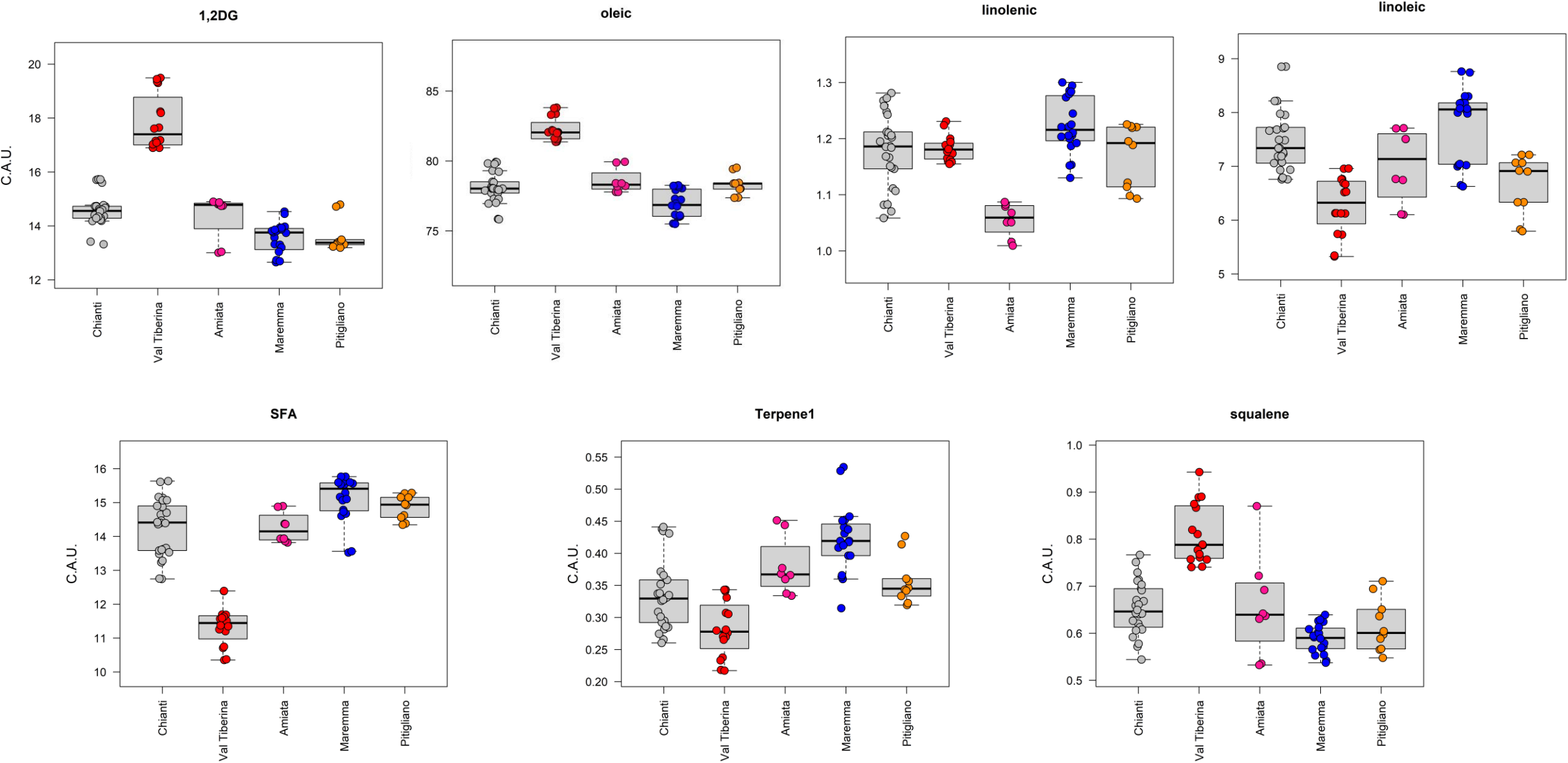
Gruppo



CARATTERIZZAZIONE DELL' AREALE



CARATTERIZZAZIONE DELL' AREALE



E' stato possibile caratterizzare le diverse cultivar e gli areali di produzione, evidenziando il legame tra composizione chimica e territorio



Analisi future

- **Studio dell'impatto del processo:** valutare in maniera sistematica come tecniche di estrazione (es. tipi di frantoio) influenzano il profilo NMR;
- **Integrazione con altri dati chimici:** analisi multivariata comprensiva di tutti i dati chimici disponibili;
- **Integrazione con sensoriale:** correlare i dati NMR con i dati sensoriali per rafforzare la comprensione chimica e percezione organolettica

PROGRESSI NELL'ACCETTAZIONE DELL'NMR COME METODO ANALITICO PER IL CIBO

Progetti europei e standard

1. **FoodIntegrity (2014–2018):** Progetto EU FP7 che ha sviluppato e validato protocolli NMR per miele e succhi di frutta, con banche dati aperte ([CORDIS](#)).
2. **AUTHENT-NET (2016–2018):** Progetto H202 dedicato alla creazione di una rete EU con focus sulla standardizzazione NMR. Rete per la standardizzazione, con partecipazione italiana tramite Università di Parma ([Authent-Net Report](#)). Germania ha avuto ruolo di guida del progetto.

Standard ISO/UNI:

- **ISO 24583:2022:** NMR quantitativa per purezza di composti organici ([ISO Store](#)).
- **UNI 11972:2025:** Primo standard italiano per NMR nel miele ([UNI Catalog](#)). <https://www.cnr.it/it/comunicato-stampa/13444/una-tecnica-per-individuare-il-miele-adulterato>

Confronto internazionale

- Germania: [CVUA Karlsruhe, 2024](#). Il CVUA (Chemischen und Veterinäruntersuchungsämter) di Karlsruhe gestisce banche dati con oltre 40K spettri NMR utilizzati per autenticare vino, miele, succhi e olio d'oliva. Non è ancora tecnica ufficiale ma viene utilizzato molto come integrazione e costituisce prova legale.
- Francia: [INAO, 2023](#). Utilizza NMR soprattutto nei settori vitivinicolo e lattiero-caseario, spesso integrate nei consorzi di tutele.
- Spagna: UNE 55020: Metodi fisico-chimici per oli (NMR è usato come supporto, ma non è ancora un metodo ufficiale ISO/CEE); Consiglio Oleicolo Internacional (COI): Ha validato l'NMR per rilevare adulterazioni in oli extravergini (studio 2022).
- Cina: [GB 31604.15-2024](#)

Strumenti

Lo strumento NMR FoodScreener™, un sistema automatizzato di controllo qualità basato su spettrometro NMR a 400 MHz sviluppato da Bruker (www.bruker.com), ha ottenuto l'accreditamento ISO/IEC 17025, in particolare per il profilaggio del vino (www.oiv.int), ma copre anche succhi, miele e olio d'oliva.

L'OIV (Organizzazione Internazionale della Vigna e del Vino) riconosce ufficialmente questo metodo per l'analisi del vino.

Conclusioni

L'Italia, con la norma UNI 11972:2025, compie un passo avanti nell'uso dell'NMR per contrastare le frodi alimentari, ma rimane indietro rispetto a Germania e Francia nell'integrazione sistemica. Servono:

1. **Investimenti** in infrastrutture e formazione (es. corsi accreditati ISO 17025).
2. **Collaborazione pubblico-privato** per espandere le banche dati.
3. **Inclusione nei disciplinari DOP/IGP**, seguendo modelli come quello tedesco.



UNIVERSITÀ
DEGLI STUDI
FIRENZE

DICUS
DIPARTIMENTO DI CHIMICA
“UGO SCHIFF”

CERM • CIRMMP INFRASTRUCTURE

GRAZIE PER L'ATTENZIONE