

Controllo della qualità dell'olio di oliva con la pirolisi-spettrometria di massa abbinata ad un sistema di "Artificial Neural Networks"

Royston Goodacre, Douglas B. Kell e Giorgio Bianchi

L'adulterazione di generi alimentari rappresenta un problema importante sotto vari aspetti e richiede l'impiego di metodi di analisi rapidi ed accurati per la sua scoperta. Questo articolo descrive l'applicazione della spettrometria di massa abbinata alla pirolisi al punto di Curie (PyMS) per il riconoscimento di oli extra vergini e di alcuni campioni degli stessi oli di oliva adulterati appositamente con oli di semi e di minor pregio.

Un sistema neuronale artificiale (ANNs-*Artificial Neural Networks*) è stato a tal fine istruito in modo da distinguere gli (spettri di pirolisi-massa) oli extra vergini da oli di oliva adulterati.

Gli autori ritengono che la combinazione della PyMS con ANNs costituisca un valido e nuovo approccio metodologico per l'accertamento delle adulterazioni e dell'olio di oliva e degli alimenti in generale.

INTRODUZIONE

Per caratterizzare sistemi biologici di diversa natura si presenta la necessità di utilizzare metodi rapidi: per esempio, per controllare se l'origine di un prodotto alimentare è quella dichiarata, oppure per verificare se un alimento è stato adulterato. In questo lavoro è descritto un nuovo approccio per la soluzione di questi problemi e una precisa applicazione del nuovo metodo nella distinzione tra olio extra vergine e olio di oliva adulterato.

La pirolisi è la degradazione

termica di materiali complessi in un'atmosfera inerte o sotto vuoto. Essa induce la frammentazione delle molecole nei loro punti deboli a produrre piccoli frammenti volatili chiamati nel loro insieme materiale pirolizzato. Viene utilizzato uno spettrometro di massa per separare i componenti del pirolizzato sulla base del loro rapporto massa-carica (m/z); in questo modo vengono acquisiti gli spettri di pirolisi-massa. Gli spettri così ottenuti sono utilizzati come "profilo chimico" o "impronta digitale" del materiale complesso analizzato. La combinazione di queste due tecniche è conosciuta col nome di pirolisi abbinata alla spettrometria di massa (PyMS) (Meuzelaar et al., 1982; Aries et al., 1986).

L'olio di oliva è l'olio estratto con mezzi meccanici dai frutti maturi dell'olio (*Olea europaea*, L.). Se tale olio presenta un contenuto in acidi grassi (espresso in termini di acido oleico) inferiore all'1%, viene classificato come olio "extra vergine"; invece gli oli con un buon aroma, ma un'acidità più alta, vengono comunemente definiti olio "vergine" e olio "vergine corrente". Infine, i prodotti meno pregiati sono costituiti da oli ad alta acidità, che presentano difetti nel gusto e/o nell'aroma e che vengono corretti con processi di rettificazione; questi oli prendono il nome di "lampante". L'olio di oliva contribuisce significativamente, da un punto di vista nutrizionale ed anche come apporto di bene-

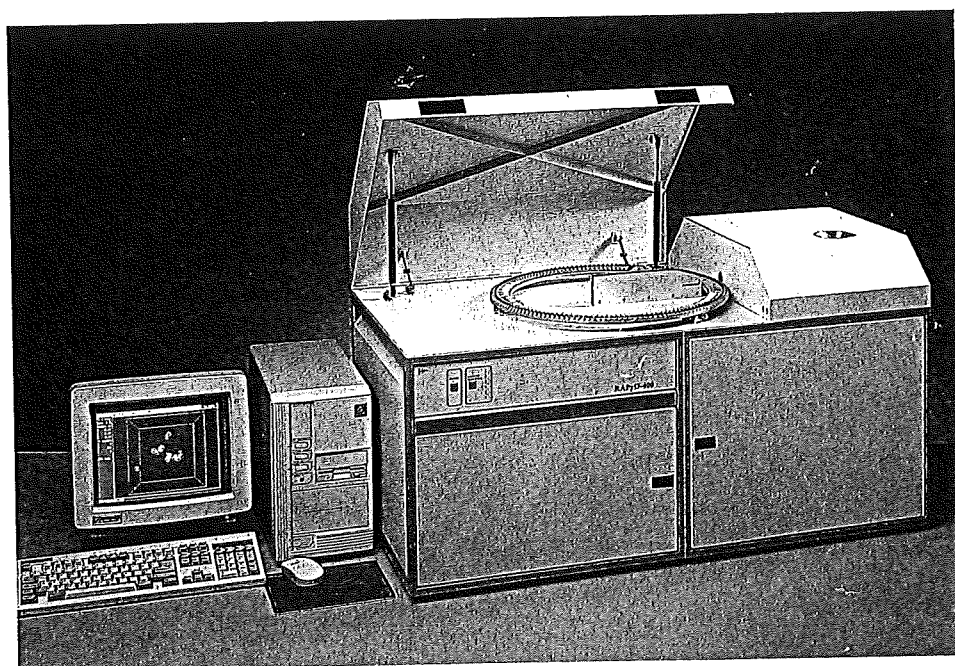


Figura 1. Pirolisi-Spettmetro di massa della Horizon Instruments

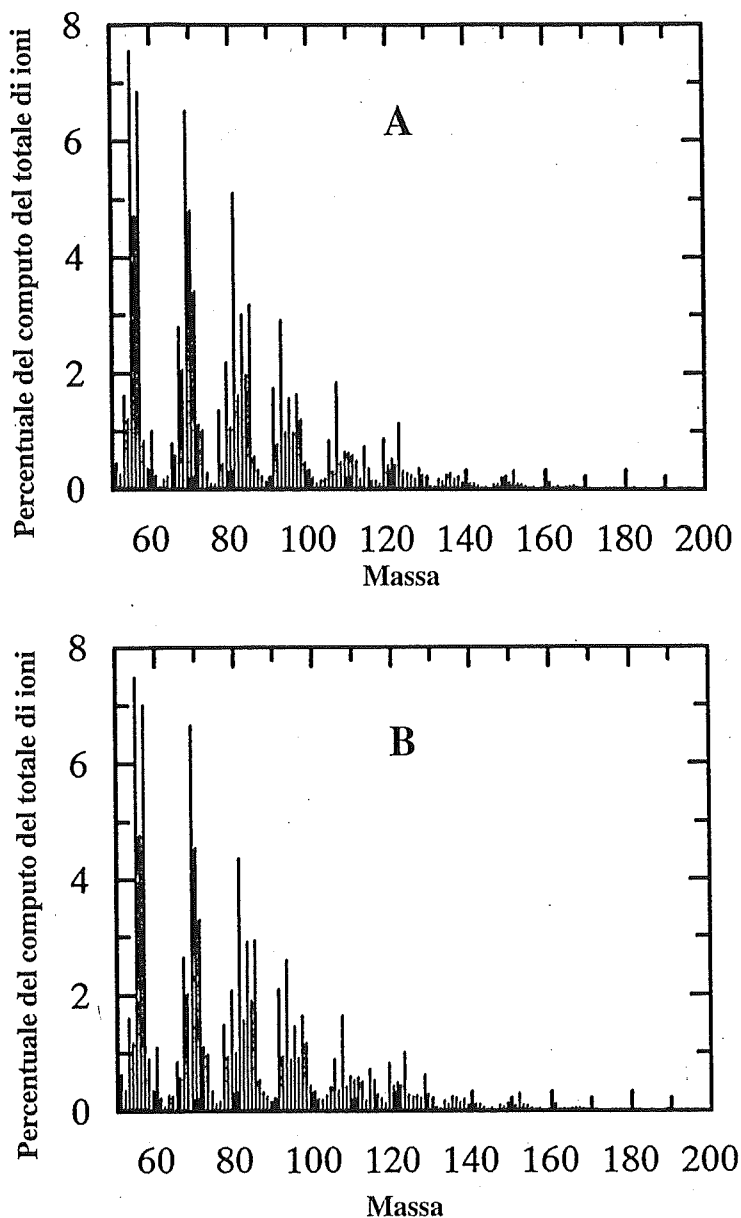


Figura 2. Spettri di pirolisi-massa: (A) olio di oliva extra vergine, (B) adulterato con 5% di olio di girasole

fici per la salute, all'alimentazione delle popolazioni del bacino mediterraneo. Unico tra gli oli vegetali, l'aroma dell'olio di oliva si esplica pienamente quando il prodotto non subisce processi di raffinazione. L'olio di oliva, per questa ed altre proprietà, ha un valore commerciale maggiore degli altri oli vegetali, e perciò c'è una notevole e diffusa tentazione di adulterarlo con altri oli di semi (Kiritsakis e Marakakis, 1991).

Numerosi metodi sono stati proposti per il riconoscimento delle adulterazioni nell'olio di oliva, per esempio metodi cromatografici (Kapoulas e Passalo-

glou-Emmanoulidou, 1981), metodi spettrofotometrici nel vicino infrarosso (Sato et al., 1991), e nell'UV (Passaloglou-Emmanoulidou, 1990); tuttavia nessuno dei metodi citati è risultato di uso ed efficacia generale.

La chemiometria è la disciplina concernente l'applicazione di metodi statistici e matematici a dati chimici (Massart et al., 1988). Un approccio correlato con questa tecnica è l'uso di un sistema neuronale artificiale (ANNs), che, nel suo insieme, può essere paragonato a una raccolta di semplici "unità di calcolo", le quali possono acquisire im-

puts numerici (dallo spettro di pirolisi-massa), che, elaborati, vengono trasformati nell'espressione di una risposta codificata (con la quale, per es., si indica se l'olio di oliva analizzato è vergine o adulterato) (Rumelhart et al., 1986). Il grande vantaggio dell'uso dei sistemi neuronali consiste nel fatto di poterli istruire.

Completato il processo di istruzione, ANN può analizzare lo spettro di pirolisi-massa "sconosciuto" e "immediatamente" stabilire il tipo di olio in esame. Quando l'operazione "inputs"- "outputs" fosse stata eseguita e completata in modo accurato, ANN così preparato è detto per definizione essere generalizzato.

METODI E RISULTATI

Si descrive qui di seguito, in modo succinto, il metodo utilizzato per le analisi, che è lo stesso già riportato in letteratura (Goodacre et al., 1992). Sono state preparate due serie di oli, la prima costituita da 12 campioni di vari oli extra vergini, e la seconda da 12 campioni di olio di oliva variamente adulterati con percentuali 5-50% di olio di soia, girasole, arachide, mais o olio di oliva rettificato.

L'esperimento veniva eseguito secondo il metodo del "doppio-controllo", così che l'identità dei componenti il secondo set non fosse nota ad alcuno del gruppo di ricerca. La PyMS veniva eseguita a 530°C, usando un apparecchio Horizon Instruments (vedi Fig. 1), come descritto da Aries et al. (1986); due spettri tipici sono mostrati in Fig. 2, da cui appare chiaro come non sia facile la distinzione.

Le analisi con ANN venivano condotte usando un programma pilotato di simulazione tipo sistema neuronale, *Neural Desk* (Fig. 3), il quale funziona con il Microsoft Windows/3.1 su un PC IBM-compatibile. Per garantire massima velocità è stata utilizzata una scheda acceleratrice per il PC (New Sprint) basata sul chip AT & T DSP32C fornito dalla stessa ditta. Tale scheda accresce la velocità di calcolo di circa 100 volte, permettendo l'analisi (e l'aggiornamento) di circa 400.000 masse per secondo. La preparazione di ANN consiste nell'inseri-

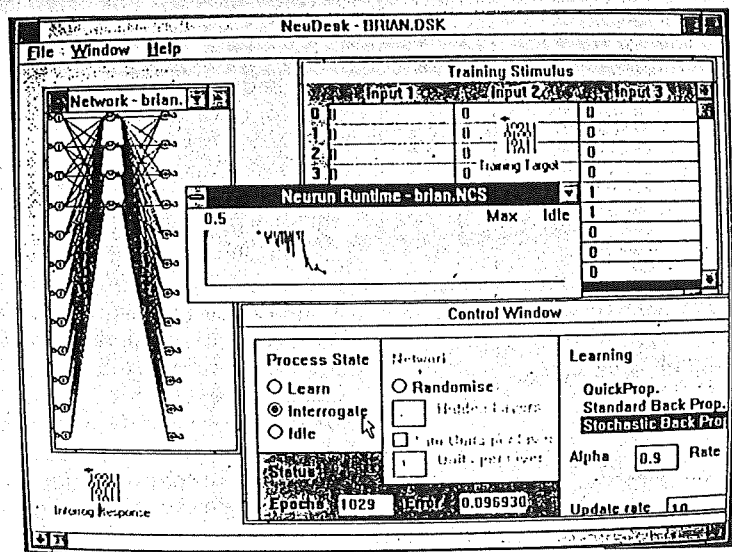


Figura 3. Programma di simulazione del sistema Neuronale Artificiale Neural Computer Sciences NeuDesk.

mento delle intensità mediate e normalizzate dei 150 ioni ottenuti dagli spettri di pirolisi-massa della prima serie di oli nell'intervallo 51-200 di unità di massa, e uno strato interno di 8 nodi, usando l'algoritmo standard di retro-propagazione (Rumelhart et al., 1986), assegnando il numero di codice 1 agli oli extra vergini e il numero 0 agli oli non vergini. L'efficacia del processo di preparazione di ANN è espressa in termini di radice quadrata dell'errore medio (RMS, root mean squared) tra i valori forniti e quelli attesi sull'intera operazione di preparazione di ANN. Completata la preparazione (quando si è ottenuto, per esempio, un errore RMS. di 0,001), il sistema ANN artificiale istruito veniva interrogato sulle intensità mediate e normalizzate degli ioni degli spettri di pirolisi-massa ottenuti dalla seconda serie di oli (quelli di natura incognita). I risultati delle analisi sono stati quindi confrontati con quelli veri, non noti ad alcuno dei componenti del gruppo di ricerca: si è constatato che ANN aveva classificato ciascun olio in maniera totalmente corretta. In un'analisi tipica di campioni, agli oli extra vergini ANN assegnava il valore $0,99976 + 0,000146$ (intervallo $0,99954 - 1,00016$) e agli oli non vergini assegnava il valore $0,001079 + 0,002838$ (intervallo $0,00026 - 0,01009$).

CONCLUSIONI E VANTAGGI DEL METODO

La PyMS presenta come vantaggi principali la velocità (il tempo medio per l'analisi di un campione è minore di 2 minuti) e l'automazione, che permettono di analizzare circa 300 campioni al giorno. Inoltre, a parte la spesa iniziale di 50.000 sterline per l'acquisto dell'apparecchio, i costi di funzionamento sono relativamente bassi: circa 1 sterlina per campione. Il potere discriminante di questo approccio è enorme, considerato che, se ciascuna massa è normalizzata con una precisione entro il 10%, ci sono 10150 possibili spettri di pirolisi-massa; si consideri, inoltre, che tutti i materiali biologici potrebbero essere pirolizzati secondo il metodo descritto. Lo studio riportato mostra chiaramente che l'uso della spettrometria di massa abbinata alla pirolisi e ad un sistema neuronale artificiale permette di scoprire rapidamente e con la massima accuratezza la contaminazione di oli di oliva extra vergini con 5-50% di olio di mais, arachide, soia, girasole, o olio di oliva rettificato. In conclusione, la combinazione di queste due tecniche costituisce una novità importante ed un approccio generale per l'accertamento dell'adulterazione degli alimenti.

RINGRAZIAMENTI

Questo lavoro è stato possibile anche per il contributo del Dipartimento di Biotecnologia del SERC del Regno Unito, nello schema di LINK in Biochimica Applicata, in collaborazione con la ditta Horizon Instruments, Neural Computer Sciences e Zeneca plo.

Si ringrazia l'Ufficio centrale di Informazione della Corona del Regno Unito per il permesso di riprodurre questo articolo.

Royston Goodacre - Douglas B. Kell
Department of Biological Sciences,
University of Wales, ABERYSTWYTH,
Dyfed SY23 3DA, U. K.

Giorgio Bianchi
Istituto Sperimentale per l'Elaiotecnica,
Contrada
"Fonte Umato"
PESCARA, Italy

BIBLIOGRAFIA

- Aries, R. E., Gutteridge, C. S. & Otley, T. W. Evaluation of a low-cost, automated pyrolysis-mass spectrometer, *J. Anal. Appl. Pyrol.* 9, 81-98 (1986).
- Goodacre, R., Kell, D. B. & Bianchi, G. Neural networks and olive oil. *Nature* 359, 594 (1992).
- Kapoulas, V. M. & Passaloglou-Emmanouilidou, S. Detection of adulteration of olive oil with seed oils by a combination of column and gas liquid chromatography. *J. Amer. Oil Chem. Soc.* 58, 694-697 (1981).
- Kiritakis, A. & Marakakis, P. Olive oil analysis. In: *Essential Oils and Waxes*, eds. H.F. Linskens and J.F. Jackson 1-20. (Springer, Heidelberg, 1991).
- Massart, D. L., Vandeginste, B. G. M., Deming, S. N., Michotte, Y. & Kaufman, L. *Chemometrics: A textbook*. (Elsevier, Amsterdam, 1988).
- Meuzelaar, H. L. C., Haverkramp, J. & Hileman, F. D. *Pyrolysis mass spectrometry of recent and fossil biomaterials*. (Elsevier, Amsterdam, 1982).
- Passaloglou-Emmanouilidou, S. A comparative study of UV spectrophotometric methods for detection of olive oil adulteration by refined oils. *Lebensmittel Untersuch. Forsch.* 191, 132-134 (1990).
- Rumelhart, D. E., McClelland, J. L. & the PDP Research Group. *Parallel Distributed Processing. Experiments in the Microstructure of Cognition*. (MIT Press, Cambridge, 1986).
- Sato, T., Kawano, S. & Iwamoto, M. Near infrared spectral patterns of fatty acid analysis from fats and oils. *J. Amer. Oil Chem. Soc.* 68, 827-833 (1991).