

## ESTRAZIONE ED IDENTIFICAZIONE DI UN OLIO DA UN PRODOTTO ALIMENTARE

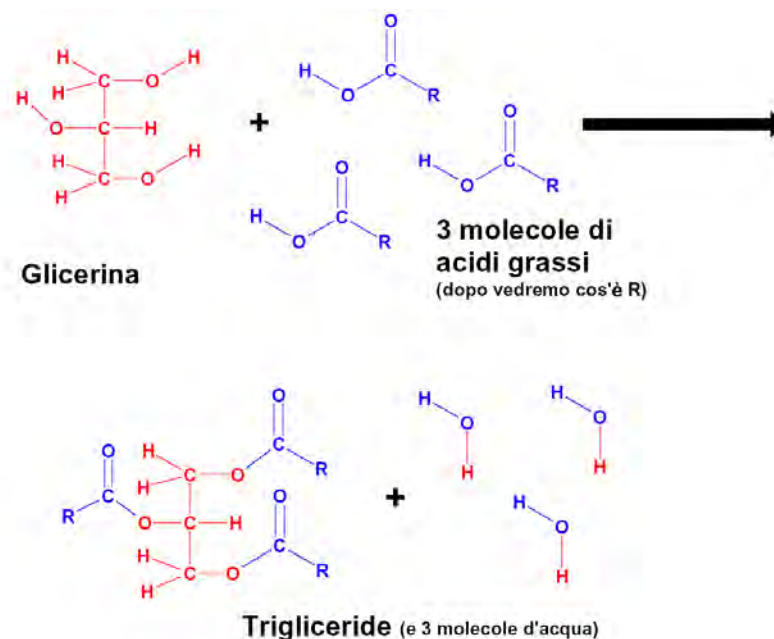
### I trigliceridi

I grassi (o meglio i lipidi) sono costituenti essenziali di moltissimi alimenti.

In alcuni di essi (olio, burro, margarina) la parte grassa costituisce praticamente la totalità dell'alimento stesso.

La classe principale dei lipidi è costituita dai **trigliceridi**.

Un trigliceride è formato dalla reazione di una molecola di glicerina con tre molecole di **acidi grassi**



### Gli acidi grassi

Un acido grasso ha formula generale (come visto sopra) **R-COOH**.

R rappresenta una catena di atomi di carbonio di lunghezza variabile. Inoltre, in questa catena, possono essere o non essere presenti doppi legami carbonio-carbonio. Se non vi sono doppi legami carbonio-carbonio, l'acido grasso si dice **saturo**, mentre se abbiamo uno o più di questi legami doppi, l'acido grasso si dice **insaturo**.

Nella tabella sottostante sono riportati gli acidi grassi più comuni negli alimenti, il numero di atomi di carbonio da cui sono formati, il numero di doppi legami carbonio-carbonio e una proporzione percentuale di abbondanza basata su produzione commestibili.

Nome	n° atomi carbonio	N° doppi legami	Nome Abbr.	Struttura	Prop. %
Acido miristico	14	0	14:0		2
Acido palmitico	16	0	16:0		11
Acido stearico	18	0	18:0		4
Acido oleico	18	1	18:1		34
Acido linoleico	18	2	18:2		34
Acido linolenico	18	3	18:3		5

Durante la digestione, i trigliceridi vengono ridivisi in glicerina ed acidi grassi. Gli acidi grassi entrano così nel nostro metabolismo, svolgendo molte ed importanti funzioni.

La funzione primaria è senza dubbio quella energetica, poiché dalla digestione degli acidi grassi si ottiene un elevato numero di molecole di ATP, che sono il carburante del nostro corpo.

Inoltre alcuni acidi grassi sono detti **essenziali**, poiché sono costituenti fondamentali per la sintesi di molecole indispensabili al nostro organismo. In particolare, si tratta dell'acido linoleico (appartenente alla classe detta  $\omega 6$  o **omega6**) e dell'acido linolenico (appartenente alla classe detta  $\omega 3$  o **omega3**).

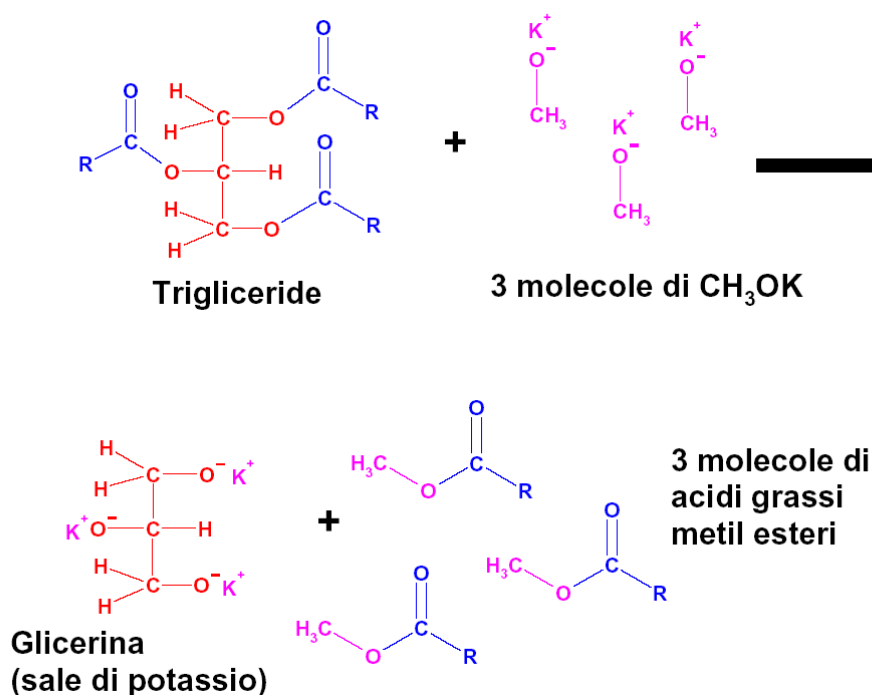
Insieme a queste caratteristiche positive degli acidi grassi, ve ne sono anche altre particolarmente negative. E' noto da tempo che una dieta ricca in grassi, e particolarmente in grassi saturi, aumenta notevolmente il rischio di malattie cardiovascolari, quali l'aterosclerosi e l'infarto. Alla luce di quanto oggi è noto sull'effetto degli acidi grassi sulla nostra salute, si consiglia alle persone adulte di adottare una dieta non molto ricca in grassi e di privilegiare i grassi di origine vegetale (prevalentemente insaturi, tra cui anche quelli essenziali delle classi 3 e 6) ai grassi di origine animale (prevalentemente saturi).

### Attività pratica

L'analisi degli acidi grassi negli oli richiede che prima di tutto essi vengano staccati dalla glicerina, in modo da ottenere acidi grassi liberi. Un secondo problema sorge dal fatto che l'analisi viene condotta con una tecnica cromatografica un po' particolare: la **gascromatografia**. Con questa tecnica le sostanze si separano a seconda delle diverse interazioni con una fase stazionaria solida, mentre la fase mobile è un gas. Perché si possa usare questa tecnica occorre che le sostanze siano dunque volatili, cioè abbiano una certa tendenza a passare in fase gassosa, mentre gli acidi grassi liberi sono poco volatili. Quando analizziamo un olio, mediante gascromatografia, esistono dunque due problemi da risolvere:

- 1) staccare gli acidi grassi dalla glicerina, cioè rompere i trigliceridi
- 2) trasformare gli acidi grassi in composti più volatili

Questi risultati possono essere ottenuti in un colpo solo mediante reazione dell'olio con metilato di potassio o di sodio ( $\text{KOCH}_3$ ). Dopo questa reazione infatti gli acidi grassi non sono più presenti come tali ( $\text{RCOOH}$ ), ma come **esteri metilici** ( $\text{R-COOCH}_3$ ), composti molto più volatili:



Il tipo e la quantità di acidi grassi differiscono moltissimo nei diversi alimenti a base essenzialmente lipidica, come si può vedere bene dalla tabella sottostante:

Prodotto	Acidi grassi a corta catena (con meno di 14 atomi di C)	Acido Palmitico (16:0)	Acido Stearico (18:0)	Acido Oleico (18:1)	Acido Linoleico (18:2) essenziale, ω6	Acido Linolenico (18:3) essenziale, ω3
Burro	24%	34%	13%	25%	2%	tracce
Margarina	tracce	12%	8%	63%	16%	tracce
Olio di oliva	tracce	14%	4%	67%	15%	tracce
Olio di semi di arachidi	tracce	10%	2%	47%	38%	tracce
Olio di semi di girasole	tracce	6%	2%	13%	79%	tracce
Lardo Bovino	7%	26%	11%	47%	2%	tracce
Lardo Suino	2%	26%	11%	48%	10%	tracce

### La tecnica comprende diverse fasi:

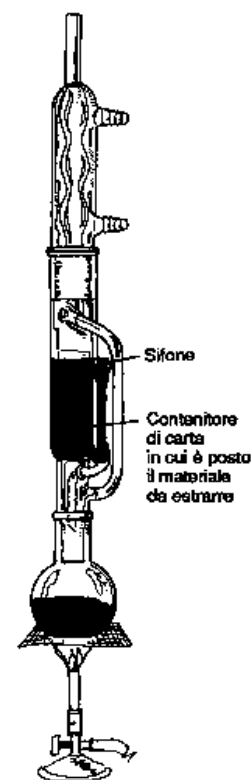
1. estrazione dell'olio
2. determinazione quantitativa nel prodotto alimentare
3. trans-esterificazione
4. analisi gas-cromatografica.

#### 1. Estrazione dell'olio con Soxhlet

L'apparecchio è costituito dal pallone, dall'estrattore di Soxhlet e dal refrigerante a ricadere. All'interno dell'estrattore è collocato un contenitore in carta da filtro pressata in cui va posto il materiale solido da estrarre. Il solvente, posizionato nel pallone, viene portato all'ebollizione, i suoi vapori raggiungono il refrigerante attraverso il raccordo laterale, quindi gocciolano sul materiale nel contenitore ed estraggono le sostanze organiche.

Appena il livello del solvente, a contatto del materiale, sfiora la curva superiore del sifone, viene risucchiato nel pallone di partenza e ricomincia un nuovo ciclo di estrazione.

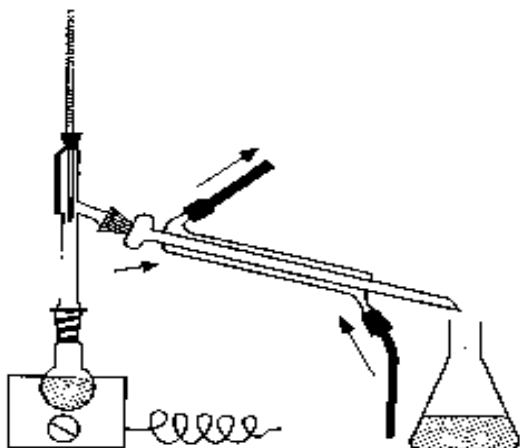
I vantaggi di un apparecchio del genere sono molteplici: innanzitutto il sistema è automatico e le estrazioni non necessitano dell'intervento dell'operatore una volta avviato il processo; inoltre, con lo stesso quantitativo di solvente si compiono numerosi cicli estrattivi garantendo una resa maggiore.



Per eseguire l'estrazione si pestano finemente in un mortaio i semi oleosi (o altro materiale da analizzare) e se ne pesa esattamente una quantità tale da riempire per  $\frac{3}{4}$  la "cartuccia" del Soxhlet. Quindi si monta l'apparecchio e si lascia estrarre per 4-5 volte con etere di petrolio o altro solvente. Si raffredda e si recupera tutto l'estratto (olio + solvente).

## 2. Distillazione del solvente

L'estratto viene posto in un pallone asciutto e pesato, quindi si procede al recupero del solvente attraverso una distillazione semplice. Si riscalda lentamente fino all'eliminazione completa del solvente (la distillazione sarà finita quando la temperatura inizia a diminuire T.E. etere= 40-60°C).



Infine si ripesa il pallone + l'olio e si determina la resa.

## 3. Determinazione quantitativa

La quantità di olio presente nel campione viene espressa in percentuale. I calcoli vengono effettuati tenendo conto dei valori precedentemente annotati.

$$\% \text{ di olio} = \frac{\text{peso olio estratto}}{\text{peso campione}} * 100$$

## 4. Trans-esterificazione

Questa operazione permette di trasformare un trigliceride in un estere più volatile, analizzabile in gas-cromatografia.

In un provettone con tappo a vite si pongono, esattamente pesati, 0,2g di olio e 3cc di metilato sodico al 3% in alcol metilico. Tenere in bagno-maria all'ebollizione per circa 3 minuti agitando continuamente (fino a scomparsa dei due strati separati; dovrà essere visibile una sola fase).

Raffreddare bene (anche sotto acqua fredda), aprire il tappo ed aggiungere 3cc di trifluoruro di boro che funziona da catalizzatore. Chiudere nuovamente la provetta con il tappo e mettere ancora in bagno-maria bollente per altri 3 minuti, continuare ad agitare.

Raffreddare bene ed aggiungere 3cc di n-esano. Agitare energicamente e lasciare stratificare. Con una pipetta raccogliere lo strato superiore (n-esano + estere) e metterlo in una provetta piccola. Ripetere l'estrazione per altre due volte con 2cc di n-esano per volta, aggiungere l'estratto ottenuto nella stessa provetta.

Evaporare l'esano **SOTTO CAPP**A su bagno-maria a 40°C (spengere la fiamma una volta raggiunta la temperatura!). Quando l'esano sarà ridotto di circa la metà si potrà aumentare la temperatura del bagno.

Quando il volume di soluzione contenuta nella provetta non varia più, mantenere in bagno-maria bollente per circa 20 minuti allo scopo di eliminare completamente il solvente. Nella provetta resteranno solo poche gocce di liquido che costituiranno la soluzione degli esteri metilici degli acidi grassi.

**Solo per l'olio di oliva** : 0,25g di olio di oliva + 5cc di esano. Aggiungere alla soluzione 0,25cc di KOH 2N in CH<sub>3</sub>OH (112g di KOH in 500cc di alcol metilico). Agitare per un minuto, lasciare stratificare le due fasi ed iniettare.

### Soluzioni per la trans-esterificazione

- **Metilato sodico: usare sodio metilato in soluzione al 30% e diluire con alcol metilico fino al 3% oppure pesare 3g di metilato sodico (ANIDRO) e scioglierli in 100cc di alcol metilico**
- **Trifluoruro di boro al 10% in alcol metilico**
- **N-esano puro per analisi**

### **Informazioni su salute/ sicurezza/ ambiente**

*Consultare preventivamente le schede di sicurezza per le informazioni riguardanti tossicità/pericolosità ed i DPI da utilizzare per la manipolazione delle sostanze previste in questo metodo.*

Per i prodotti di scarto derivanti dall'utilizzo di questo metodo attenersi alle specifiche procedure di laboratorio.

<b>Reagente</b>	<b>Symboli</b>	<b>Frafi di rischio</b>
<b>Etere dietilico</b>	<b>Xn</b>	R: 12-19-22-66-67
<b>Metilato sodico</b>	<b>T</b>	R: 10-23/25-34
<b>Trifluoruro di boro</b>	<b>F</b> <b>T</b>	R: 11-23/25-34
<b>Alcol metilico</b>	<b>F</b> <b>T</b>	R: 11-23/25
<b>n-Esano</b>	<b>Xn</b> <b>F</b> <b>N</b>	R 6-11-38-48/20-51/53-65