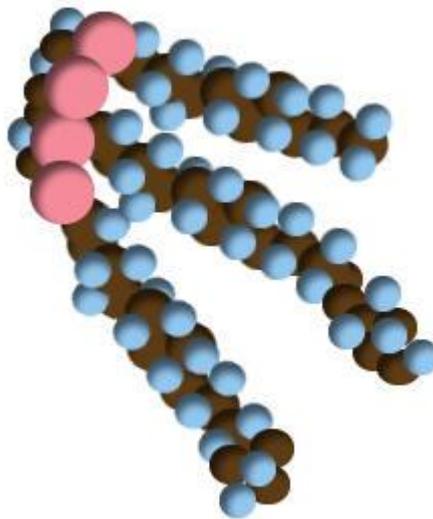


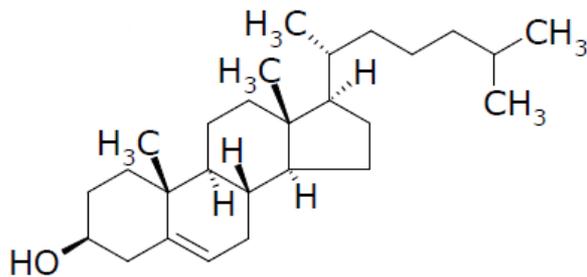
# Analisi dei Lipidi



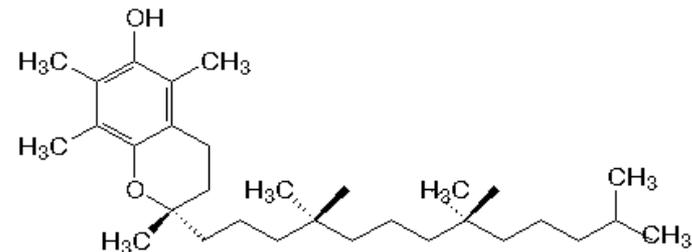
Lipidi: sostanze non polari (idrofobiche) insolubili in acqua e solubili in solventi organici apolari (es etere, acetone, cloroformio).

Si classificano come:

- **Semplici**: molecole che non contengono la funzione esterea o ammidica (steroidi, terpeni e vitamine liposolubili) → sono anche detti **insaponificabili**.

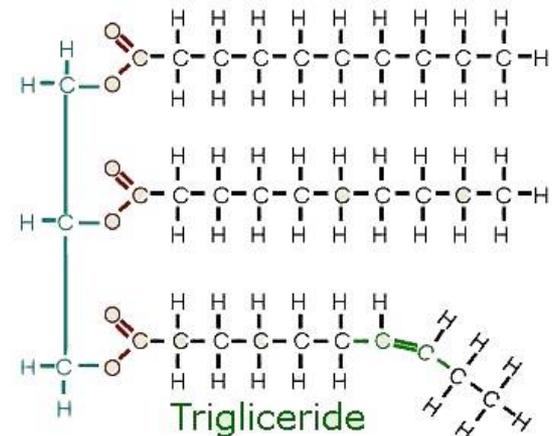


Colesterolo



Vitamin E ( $\alpha$ -tocopherol)

- **Complessi**: derivati degli acidi grassi variamente esterificati o amidati (gliceridi, cere, fosfolipidi, glicolipidi, trigliceridi) → sono anche detti **saponificabili**.



# Estrazione Lipidi

La prima tappa per una analisi qualitativa o quantitativa dei lipidi è l'estrazione dalla matrice da esaminare (perché insolubili in acqua).

Si usano miscele parzialmente idrosolubili di solventi organici (es. alcol-etero, metanolo-cloroformio), che solubilizzano i lipidi e li separano dagli altri componenti.

## Estrazione:

- A **caldo**, è più completa, ma rischia alterazioni di alcune frazioni lipidiche per formazione di perossidi;
- A **freddo**, elimina gli inconvenienti della degradazione dei lipidi.

# Estrazione a caldo

Si opera alla temperatura di ebollizione del solvente prescelto e si usano particolari estrattori → **estrattore continuo di Soxhlet**.

Costituito da: pallone (per solvente), estrattore (per campione), refrigeratore a caduta.

Funzionamento:

- La sostanza da cui estrarre i lipidi si mette in un ditale di Soxhlet (un provettone di carta da filtro spessa).
- Si assembla l'apparecchiatura e si scalda il pallone.
- Il solvente evapora e si condensa a contatto con il refrigerante → cade sul campione
- Quando è pieno, il solvente esce dal sifone e torna nel pallone.
- L'estrazione viene prolungata per 12-24 ore, si elimina il solvente e si secca il residuo.



Fonte: Internet

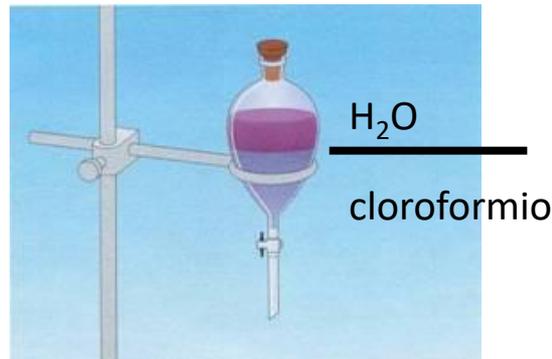
Metodo di riferimento per diverse applicazioni nel settore agroalimentare.

# Estrazione a freddo

Come solvente si usa spesso una miscela **cloroformio : metanolo** 2:1 in volume. Questo tipo di estrazione prende il nome di *metodo di Folch*, usato per campioni piccoli, o *metodo di Bligh-Dyer*, per campioni grandi (e con alta umidità).

Questa estrazione prevede il mescolamento della miscela cloroformio-metanolo con il campione e l'aggiunta successiva di acido solforico diluito.

Si formano due fasi: superiore, contenente acqua + metanolo; inferiore, contenente cloroformio + lipidi.



Fonte: Internet

Evaporando il cloroformio si può ottenere una quantificazione gravimetrica del residuo, usando un recipiente tarato.

Questo metodo può essere impiegato sia per campioni di origine biologica (plasma, tessuti) che per la separazione della frazione lipidica dagli alimenti.

# Analisi «qualitative»

La maggior parte hanno interesse in campo merceologico, e per le implicazioni dei lipidi e il loro diverso valore in campo dietetico.

## Punto di fusione e solidificazione

Può fornire indicazioni sulla natura dei lipidi in esame: infatti, i grassi naturali in genere sono un miscuglio di lipidi diversi che fondono a temperature differenti → punto di fusione non definito.

## Numero di Iodio

Numero di grammi di iodio fissati da 100 g di grasso.

Indice del **grado di insaturazione del grasso**: si fissano 2 atomi di iodio per ogni doppio legame.

Maggiore il numero di iodio → maggiore il contenuto di acidi grassi insaturi.

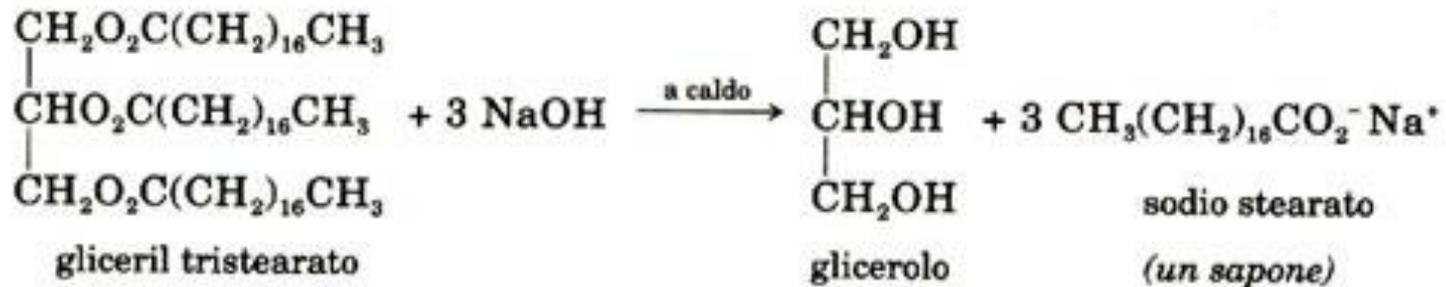
Es. olio di noce di cocco 8-10, burro 22-38, lardo di maiale 54-70, olio di oliva 80-90, olio di semi di lino 180-200

## Numero di Saponificazione

Numero di mg di KOH necessari per saponificare 1 g di grassi.

L'idrolisi dei trigliceridi origina glicerolo e acidi grassi: in presenza di una base, si forma glicerolo ed il sale dell'acido grasso (*sapone*) → processo di **saponificazione**.

*Saponificazione:*



Fonte: Internet

Dal numero di saponificazione, si può **ricavare il peso molecolare medio dei trigliceridi** → **indice della lunghezza della catena carboniosa** degli acidi grassi costituenti.

## Numero di acidità

Numero di mg di KOH necessari per neutralizzare gli acidi grassi liberi presenti in 1 g di grassi.

Idrolisi spontanea con liberazione di trigliceridi, mono e digliceridi ed acidi grassi  
→ esposizione a luce, temperatura elevata, presenza di enzimi, umidità.

*Indice del grado di rancidità di un grasso.*

## Analisi spettrofotometrica

Gli acidi grassi polinsaturi possono essere riconosciuti e determinati dal loro assorbimento in UV per la presenza di doppi legami: se coniugati (**dieni 232 nm; trieni 270 nm**) sono stati modificati.

La valutazione a queste due  $\lambda$  permette la valutazione della qualità di un olio.

# Analisi quantitative

## Lipidi totali

Può essere fatta con metodi gravimetrici, turbidimetrici o colorimetrici.

- **Metodo solfo-fosfo-vanillico**

Riscaldamento con acido solforico concentrato del campione → lipidi si degradano: in presenza di acido fosforico reagiscono con la vanillina per formare derivati **rosa-rosso**.

- **Metodo di Gerber**

Usato per la determinazione del grasso nel latte.

Il latte è trattato con acido solforico + alcol isoamilico → i lipidi restano intatti ma il resto si carbonizza.

La reazione viene fatta in un apparecchio di vetro, il *butirrometro di Gerber*: ha un collo graduato su cui leggere la percentuale di grasso (dopo centrifugata).



## Trigliceridi

Si basano sulla determinazione del glicerolo liberato a seguito di saponificazione: può essere fatta per via chimica o enzimatica.

Un metodo chimico prevede:

- estrazione lipidi;
- Allontanamento fosfolipidi e altre sostanze che interferiscono;
- Saponificazione;
- Determinazione colorimetrica o fluorimetrica del glicerolo.

Un metodo enzimatico, per esempio usato in chimica clinica per la trigliceridemia, prevede l'uso di diversi enzimi:

- Trigliceridi idrolizzati dalla *lipasi*;
- Fosforilazione del glicerolo ad opera della *glicerochinasi* consumando ATP;
- L'ADP formato reagisce con il fosfoenolpiruvato in presenza di *piruvato chinasi*, formando piruvato;
- Il piruvato viene ridotto a lattato dalla lattico deidrogenasi, in presenza di NADH.

Si valuta il calo di assorbimento a 340 nm, dovuto all'ossidazione del NADH a NAD<sup>+</sup>.

## Colesterolo totale

Può essere determinato con metodi chimici ed enzimatici.

### Metodo chimico (*Ferro ed Ham*):

Reattivo unico con anidride acetica, acido acetico ed acido solforico concentrato. La reazione con il colesterolo produce un colore blu-verde con massimo di assorbimento a 615 nm. Si determina il colesterolo nel campione in base ad uno standard.

### Metodo enzimatico:

Si utilizzano la colesterolo esterasi e la colesterolo ossidasi, misurando spettrofotometricamente l'acqua ossigenata prodotta dalla ossidasi → uso di una perossidasi.

