Evoluzione delle ricerche sulle frodi nel settore delle sostanze grasse, dei lipidi e degli alimenti in generale

Giovanni Lercker
Alma Mater Studiorum – Università di Bologna

Dipartimento di Scienze e Tecnologie Agro-Alimentari

ASPETTI MOLECOLARI

QUALITA' **SICUREZZA**

Da Celi, Lercker, Schiraldi, I Fondamenti Molecolari della Qualità e della Sicurezza degli Alimenti, Milano 2004

Principali argomenti scientifici

- OLI dalle OLIVE (Oli Extravergini di Oliva, Oli Vergini di Oliva, Oli di Oliva, Oli di Sansa e Oliva) 132
- OSSIDAZIONE DEI LIPIDI (meccanismo radicalico, meccanismo ossidante o riducente) 131
- ALTRI OLI e GRASSI (fonti oleaginose tradizionali, fonti oleaginose di particolari origini e localizzazioni) 85
- LATTE e DERIVATI (prodotti tradizionali di localizzazione geografica differenti, tutte con lo scopo di ottenere derivati conservabili) 42
- LIPIDI UMANI e CAVIE 36
- ANTIOSSIDANTI (chain breaking e riducenti) 20
- ROYAL JELLY (“pappa reale”, gelatina reale) 18
- CAFFE’ (due tipi di caffè: arabica e robusta) 12
- ALGHE, MICRORGANISMI (composizioni e utilizzazioni) 9

UN PO' DI STORIA

- CHIMICA DEGLI INDICI
- CHIMICA ANALITICA STRUMENTALE

Evoluzione dei metodi analitici delle sostanze grasse fra il 1860 e il 1940

1860 – 1870

Titolo degli acidi grassi

1870 – 1890

Numero di Henner

Numero di acidità

Numero di saponificazione

Indice di Reichert-Meissl-Polenske

1890 – 1920

Numero di iodio

Numero di acetile

Numero di polibromuro

Numero di Kirchner

Indice di Bömer

Numero di idrossile

Numero di idrogeno

1920 – 1940

Indice di Bellier

Numeri A e B (indici di Bellier)

Numero di perossidi

Indice di dieni

Numero di tiocianogeno (solfocianogeno)

Numero di carbossile

Test di Kreis (rancidità)

Test di Fitelson (olio di tè)

Reazione di Halphen (olio di semi di cotone)

Reazione di Villavecchia (olio di semi di sesamo)

Evoluzione dei metodi analitici delle sostanze grasse fra il 1940 e il 1999

1940 –1950

Potenziometria

Spettroscopia (UV, Visbile, IR)

1950 – 1960

Cromatografia su colonna (LC)

Cromatografia su colonna a fasi invertite

Cromatografia con resine a scambio ionico

Cromatografia su strato sottile (TLC)

Metodi enzimatici

Gas cromatografia (GLC o GC)

Crom. liquida ad elevata prestazione (HPLC)

1960 – 1970

Assorbimento atomico Elettroforesi capillare

Riflessione IR

1970 – 1980

Assorbimento atomico

TLC su bacchetta di quarzo

Chemio-luminescenza

Spettrometria di massa (MS)

Risonanza magnetica nucleare (NMR)

1980 – 1990

Combinazione GC-MS

Metodi immunologici

Torcia al plasma

Combinazione plasma-spettrografia di massa (ICP-MS)

1990 - 1999

Combinazione cromatografia liquida ad elevata prestazione-spettrometria di massa (LC-MS)

Altre tecniche analitiche strumentali

RISONANZA MAGNETICA NUCLEARE

Bassa risoluzione

Pulsata

PIROLISI GAS CROMATOGRAFICA

CALORIMETRIA DIFFERENZIALE A SCANSIONE

REOLOGIA

Principi base delle separazioni cromatografiche

- Interazione della molecola (struttura molecolare) con le altre molecole del campione da esaminare e con la ‘’fase stazionaria’’ (maggior o minore e tempi di contatto) e con la fase mobile
- In gascromatografia la fase mobile è un gas (pochissima interazione)
- La scelta della fase stazionaria (‘’fase fissa’’) è prevalente sulle altre variabili

I lipidi e le sostanze grasse

- I lipidi sono quelli che troviamo nei sistemi naturali: in tessuti e fluidi corporei, ricchi di sostanze grasse e altri componenti (lipocompatibili)
- Le sostanze grasse sono i costituenti lipidici prevalenti dei sistemi naturali, da essi ottenibili per separazione
- Gli oli e i grassi sono sostanze grasse direttamente consumabili (come tali)

Costituenti delle sostanze grasse

- Triacilgliceroli (trigliceridi)
- Fosfolipidi
- Glicolipidi
- Componenti minori

COMPONENTI MINORI

- Di-acilgliceroli (digliceridi, DG)
- Mono-acilgliceroli (monogliceridi, MG)
- Acidi grassi liberi (FFA)
- Acidi grassi *trans* (TFA)
- Acidi grassi ossigenati (OFA)
- Acidi grassi ciclici (CFA)
- Acidi grassi ramificati (BFA)
- Acidi grassi dimeri (DFA)
- Componenti dell'insaponificabile (UC)
- Prodotti di ossidazione del colesterolo (COPs)
- Fosfolipidi (PL)

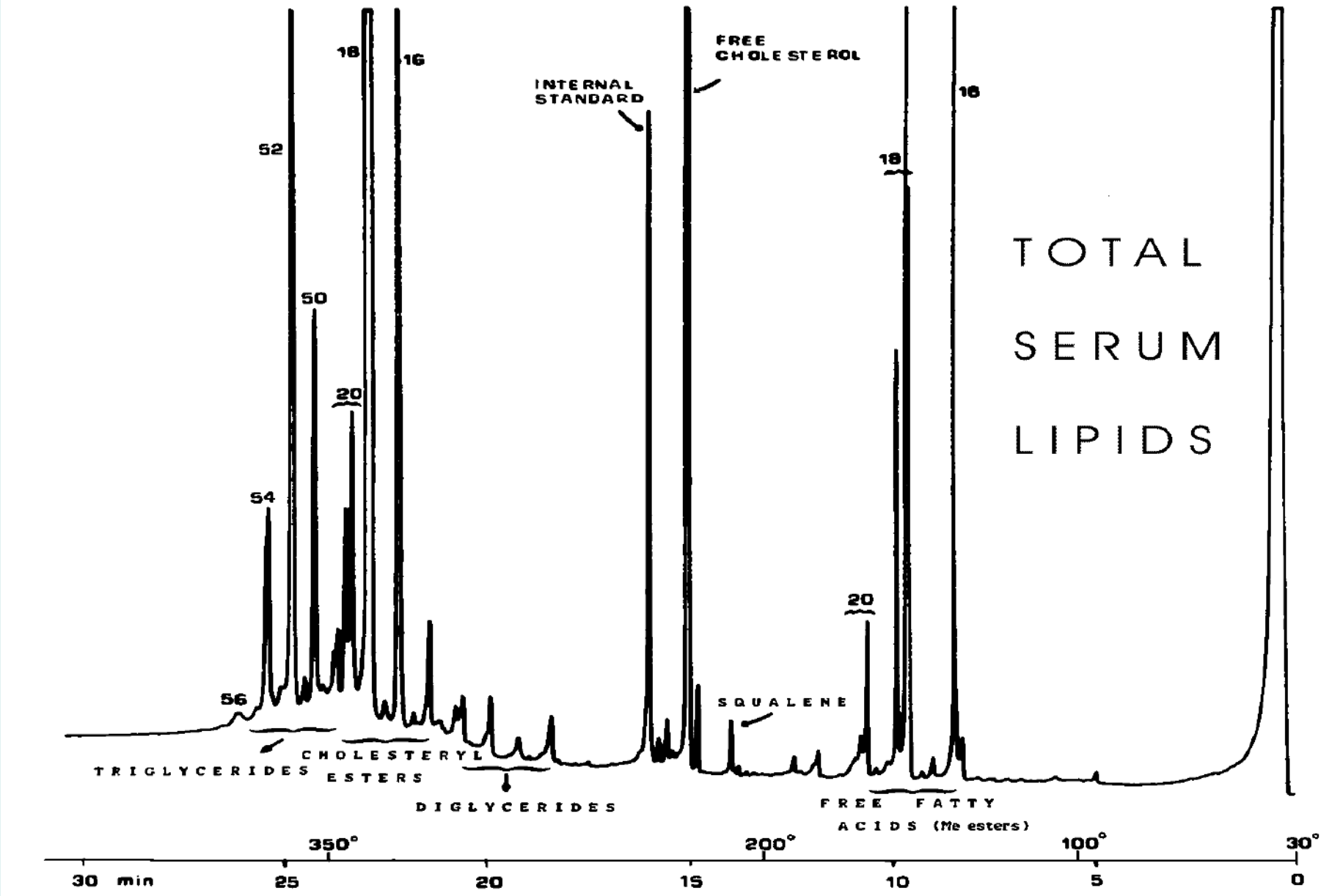
Insaturazione degli acidi grassi

- **PRESENZA DI UNO O PIÙ DOPPI LEGAMI**
  - INSTABILITÀ ALL'OSSIDAZIONE
  - FLUIDITÀ DELLA SOSTANZA GRASSA
  - PUNTO DI SOLIDIFICAZIONE
  - ASPETTI NUTRIZIONALI
- **CONFIGURAZIONE DEI DOPPI LEGAMI**
  - INSTABILITÀ ALL'OSSIDAZIONE
  - FLUIDITÀ DELLA SOSTANZA GRASSA
  - PUNTO DI SOLIDIFICAZIONE
  - ASPETTI NUTRIZIONALI
- **INTERAZIONI CON I SISTEMI CROMATOGRAFICI**
  - POLARI E NON POLARI
  - TEMPI DI "RITENZIONE" (di analisi) SENSIBILI A Mwt E POLARITÁ

Punti di fusione degli acidi grassi

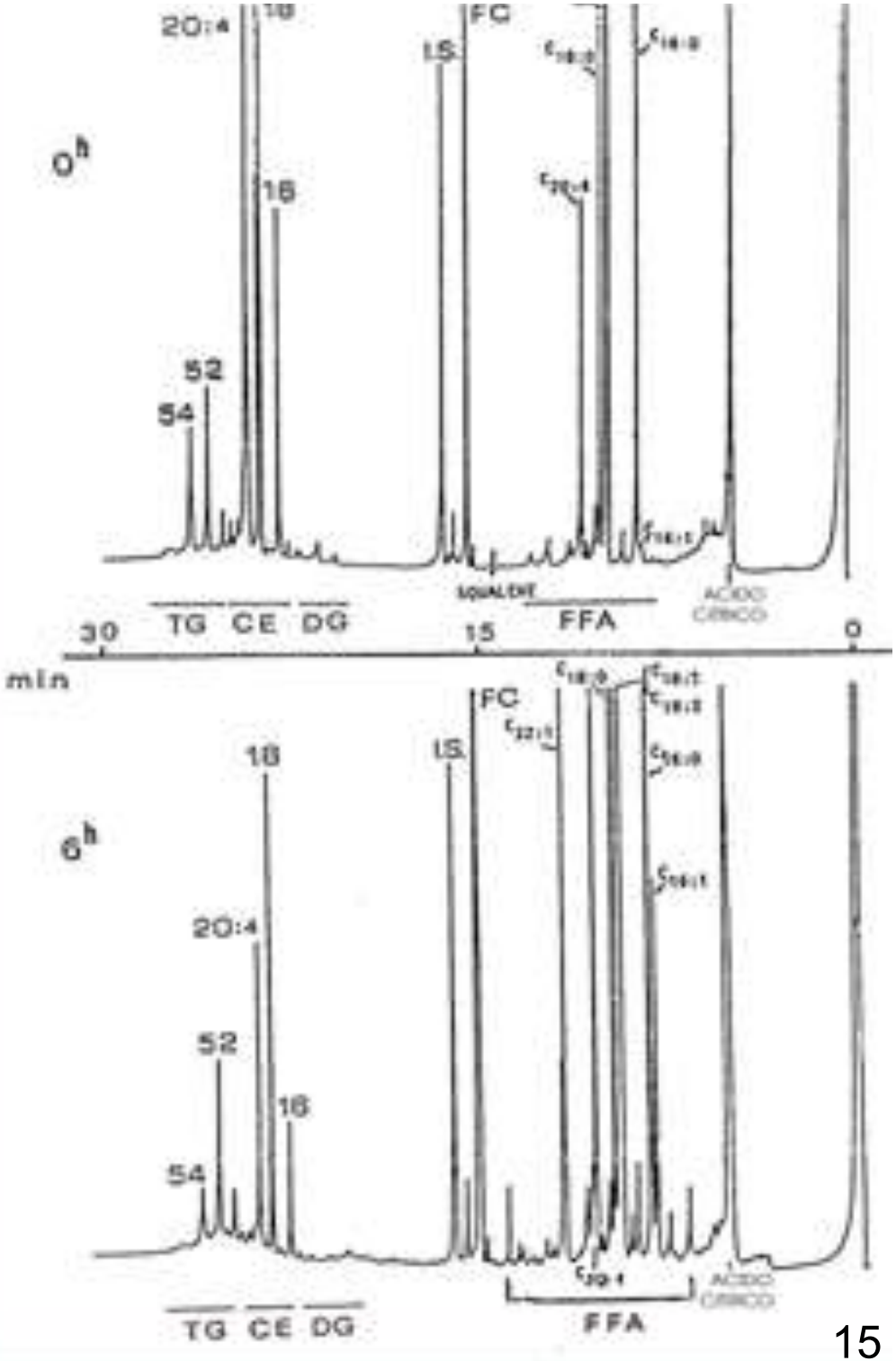
Sigla	Nome triviale (sigla) Acido	Denominazione IUPAC Acido	Peso Molec.	Punto di fusione °C
C16	Palmitico	Esadecanoico	256,4	63,1
C18	Stearico	Ottadecanoico	284,4	69,6
C18:1 *cis*	Oleico	9-*cis*-Ottadecenoico	282,4	16,2
C18:1 *trans*	Elaidinico	9-*trans*-Ottadecenoico	282,4	43,7
C18:1 n-7	Asclepico	11-*cis*-Ottadecenoico	282,4	39
C18:2	Linoleico	9,12-*cis*,*cis*-Ottadecadienoico	280,4	- 5
C18:3 n-6	γ-Linolenico	6,9,12-*cis*-Ottadecatrienoico	278,4	-
C18:3 n-3	α-Linolenico	9,12,15-*cis*-Ottadecatrienoico	278,4	- 11
C18:4 n-3	Stearidonico	6,9,12,15-*cis*-Ottadecatetraenoico	276,4	- 57
C20	Arachico	Eicosanoico	312,5	75,3
C20:1 n-9	Gondoico	11-*cis*-Eicosenoico	310,5	-
C22	Beenico	Docosanoico	340,5	79,9
C22:1 n-9	Erucico	9-*cis*-Docosenoico	338,6	33,4
C20:4 n-6	Arachidonico (AA)	Eicosatetraenoico		- 50
C20:5 n-3	EPA	Eicosapentaenoico	302,5	- 54
C22:5 n-3	DPA	Docosapentaenoico	330,6	-
C22:6 n-3	DHA	4,7,10,13,16,19-*cis*-Docosaesaenoico	328,6	- 44

Lipidi totali di siero umano



G. LERCKER, M. COCCHI, E. TURCHETTO, S. SAVIOLI, High Resolution Gas Chromatography (HRGC) of the lipids extracted from blood serum., HRC & CC, 7, 274-276 (1984).

Lipidi sierici del digiuno del ratto



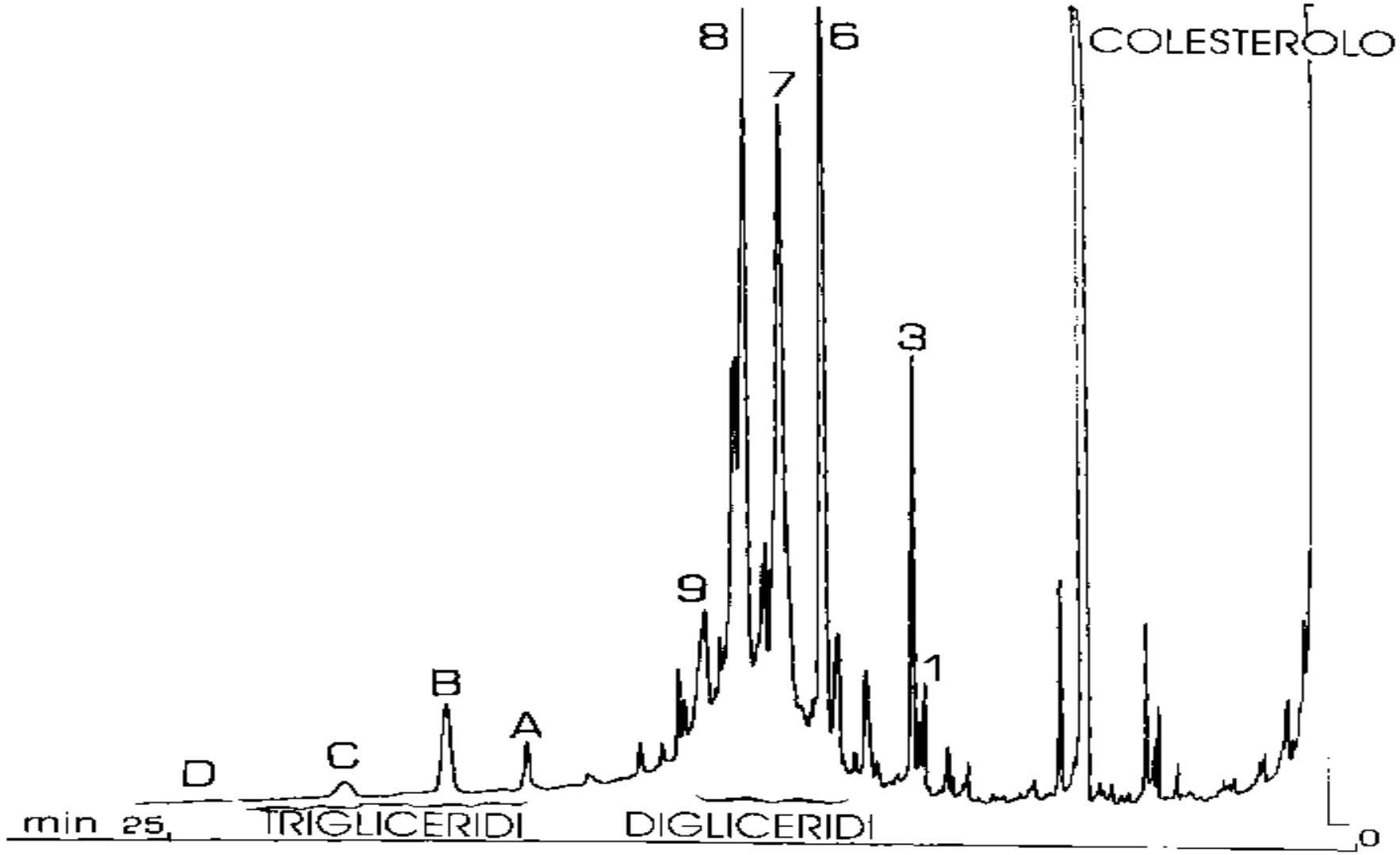
G. LERCKER, M. COCCHI, E. TURCHETTO, P. CAPELLA, C. ZULLO, M.F. CABONI. Determination of total lipid components by a high resolution gas chromatographic method. Application to the short-term fasting of rats., Riv. Soc. Ital. Sci. Alimentazione, 22, 147-152 (1993)

Caratteristiche della possibilità analitica

- Analisi dell'assetto lipidico, completa e con errori di misura dello stessa dimensione
- Rilevazione di componenti in tracce
- Applicazione al digiuno breve del ratto

Lipidi totali di membrana di ratti obesi per iperfagia

(cellule di fegato)

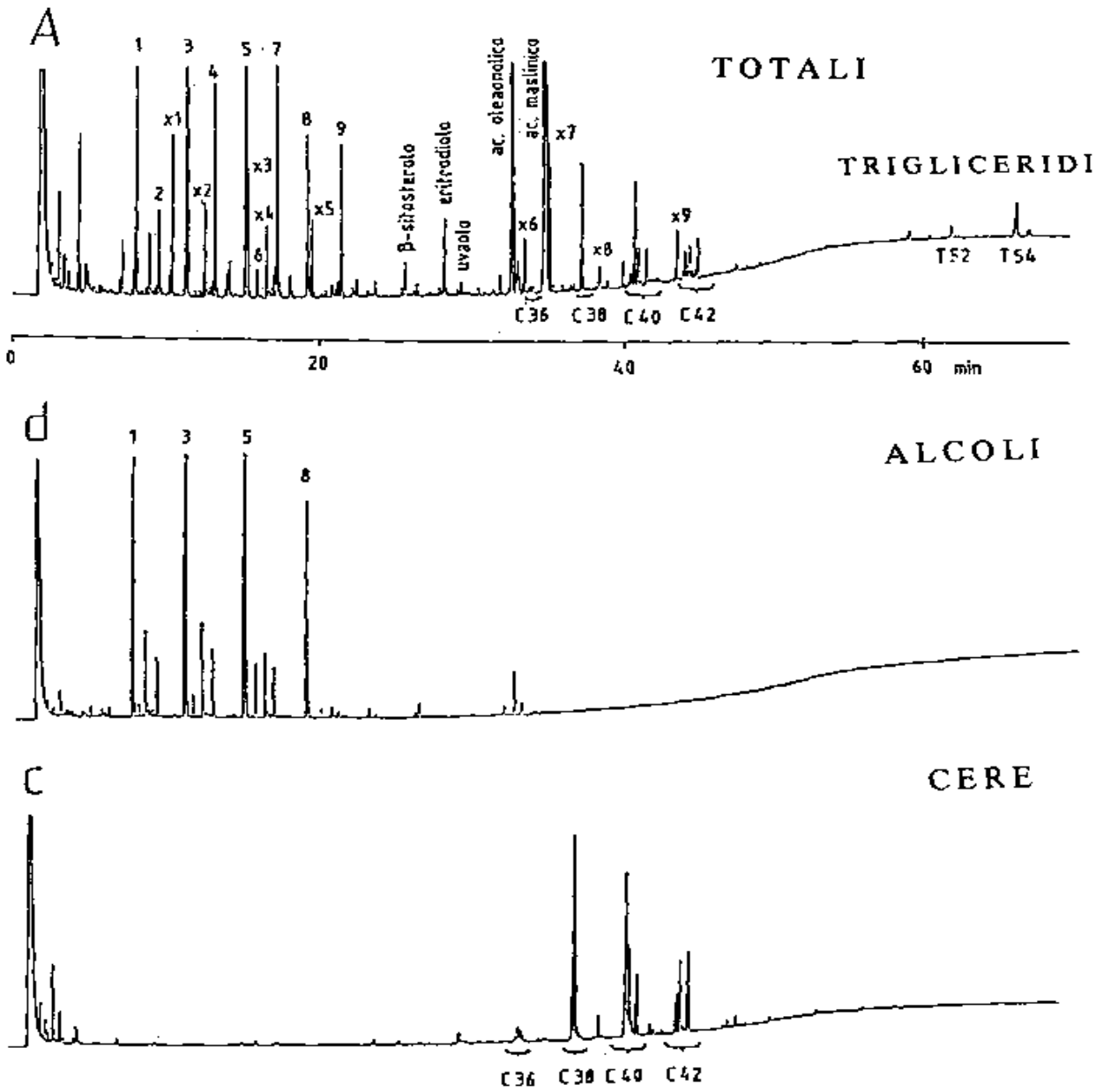


J.C. IZPISUA, T. BARBER, J. CABO, S. HRELIA, C.A. ROSSI, G. PARENTI CASTELLI, G. LERCKER, P.L. BIAGI, A. BORDONI, G. LENAZ, Lipid composition, fluidity and enzymatic activities of rat liver plasma and mitochondrial membranes in dietary obese rats., Int. J. of Obesity, 13, 531-542 (1989)

Caratteristiche della possibilità analitica

- Rilevazione di trigliceridi in membrana di cellule e di mitocondri del fegato di ratto

- Osservazione dell'incremento dei trigliceridi nelle membrane e nei mitocondri del fegato di ratti obesi (per iperfagia)



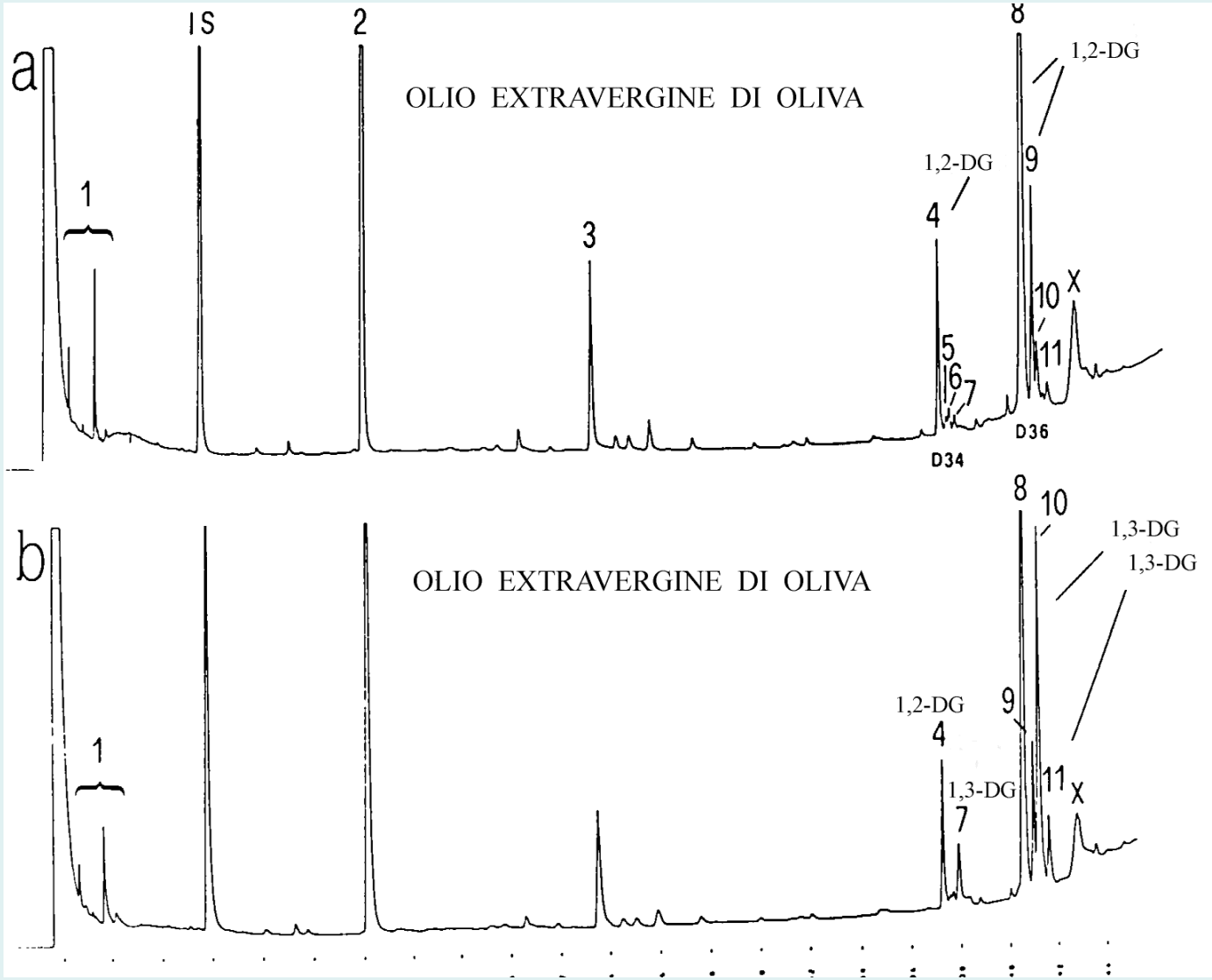
I lipidi della superficie della drupa d'olivo

N. FREGA, G. LERCKER, La composizione dei lipidi della drupa di olivo durante la maturazione. Nota I: I lipidi e gli acidi totali., Agrochimica, 29., 300-309 (1985)

Determinazione cGC dei diacilgliceroli

0 mesi
di conservazione

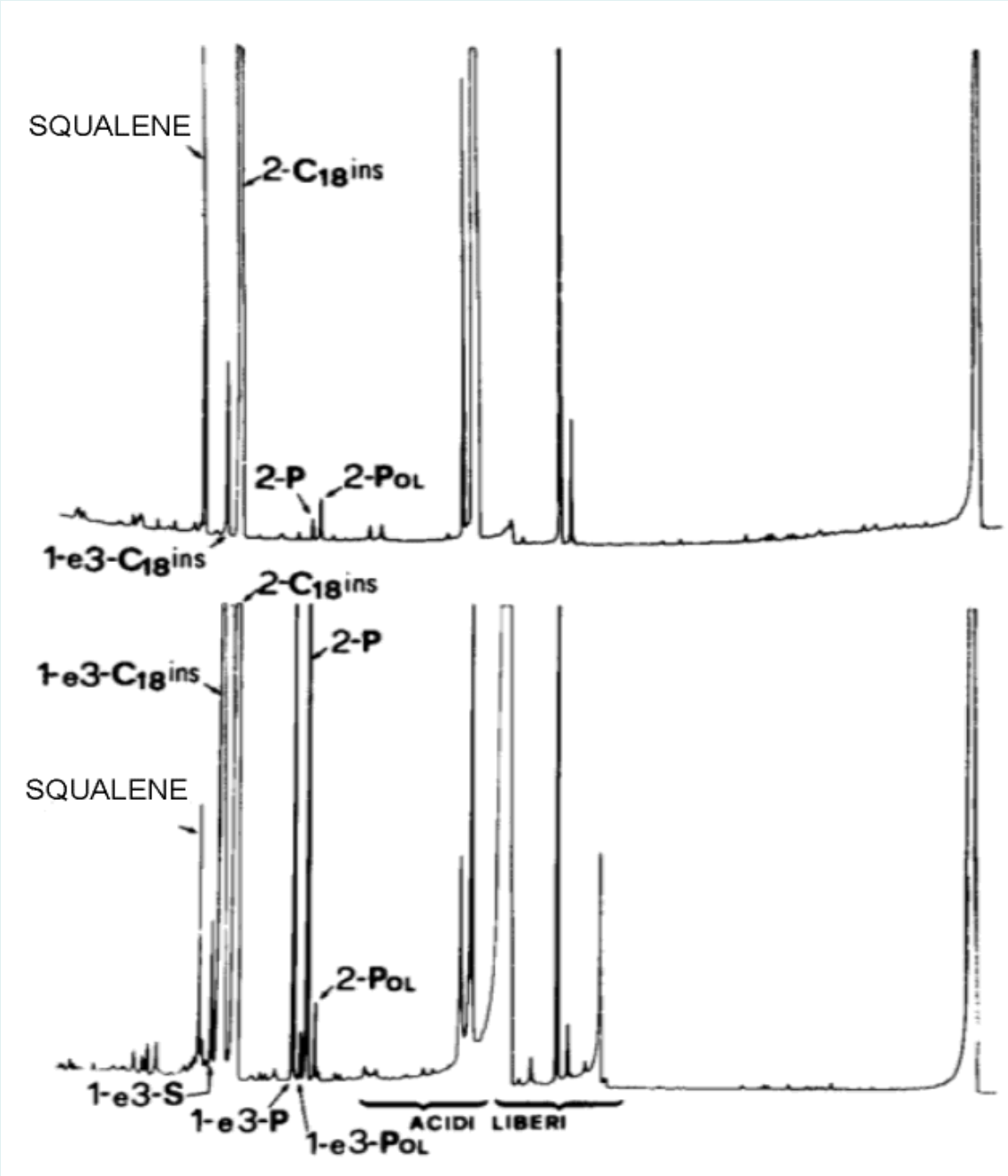
10 mesi
di conservazione



N. FREGA, F. BOCCI, G. LERCKER, High-resolution gas-chromatographic determination of diacylglycerols in common vegetable oils., J. Am. Oil Chem. Soc., 70, 175-177 (1993)

OLIO EXTRAVERGINE D'OLIVA

Determinazione cGC dei monoacilgliceroli

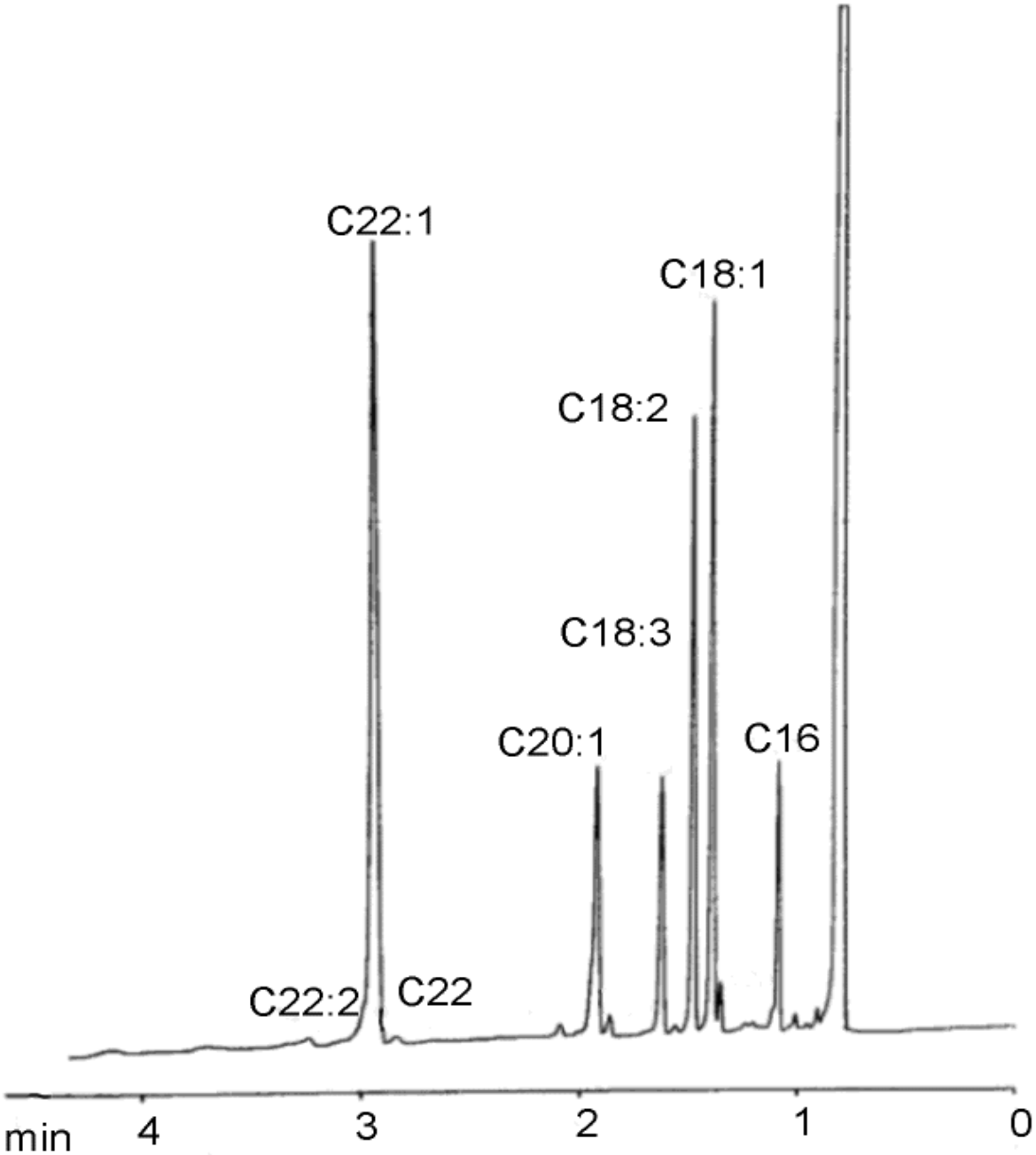


G. LERCKER, M. MOSCHETTA, M.F. CABONI, N. FREGA, Determinazione degli oli esterificati negli oli provenienti dalla lavorazione delle olive., Riv. Ital. Sostanze Grasse, 62, 15-18 (1985)

OLIO ESTERIFICATO 100 %

Analisi rapida degli esteri metilici

(colonna di 15 m di Carbowax 20M)



L.S. CONTE, Q. LEONI, S. PALMIERI, P. CAPELLA, G. LERCKER, Half-seed analysis: rapid chromatographic determination of the main fatty acids of sunflower seed., Plant Breeding, 102, 158-165 (1989).

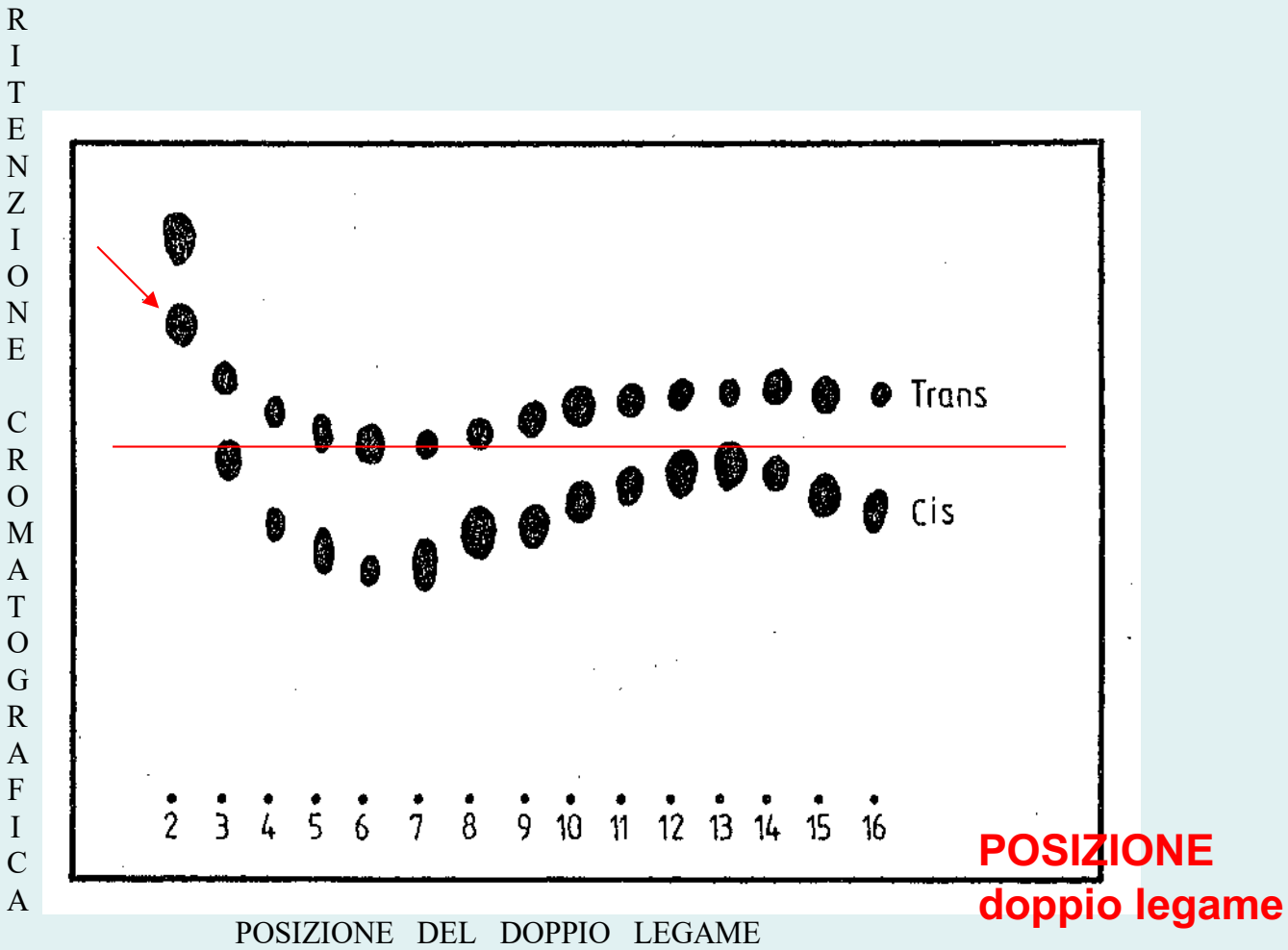
Caratteristiche della possibilità analitica

- Analisi rapida della composizione degli acidi grassi, previa metilazione e aggiunta dello standard interno (quantitativa)

- Impiego nella selezione genetica, soprattutto per il settore delle oleaginose

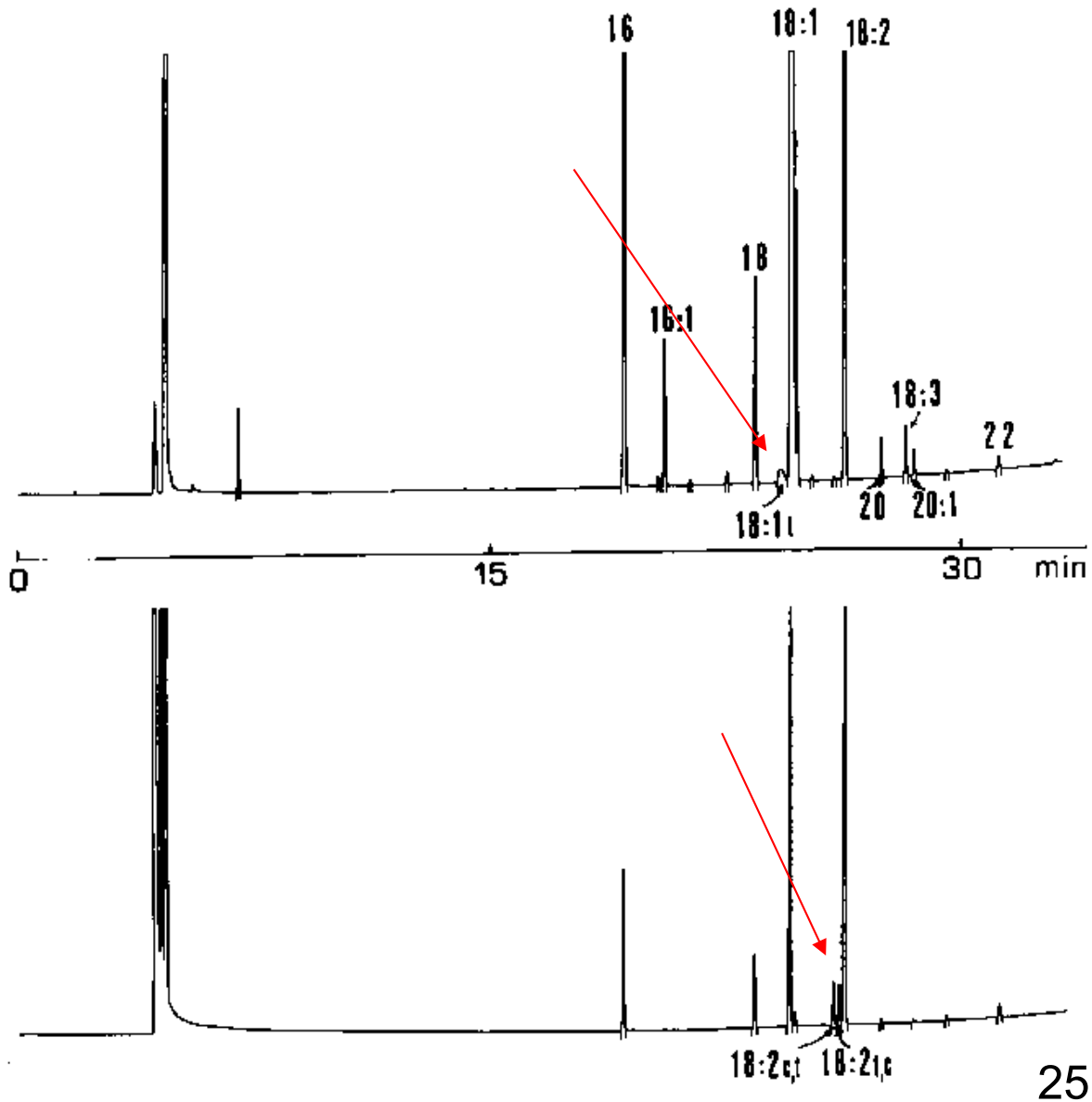
Comportamento in TLC degli isomeri di posizione *cis* e *trans* di acidi grassi monoinsaturi

R_f
(Retention Factor)

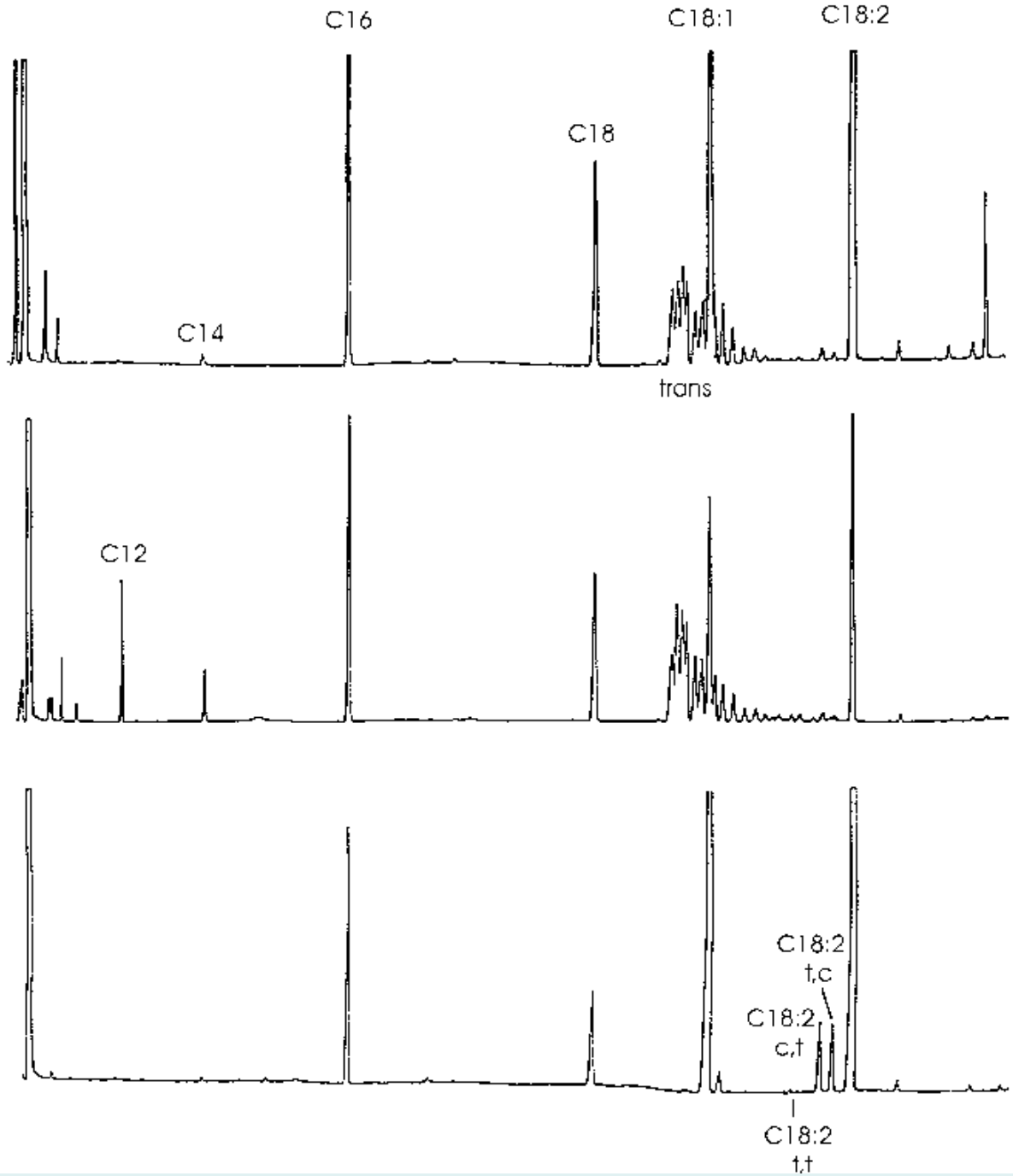


POSIZIONE doppio legame

Comportamento gas cromatografico di acidi grassi di oli raffinati

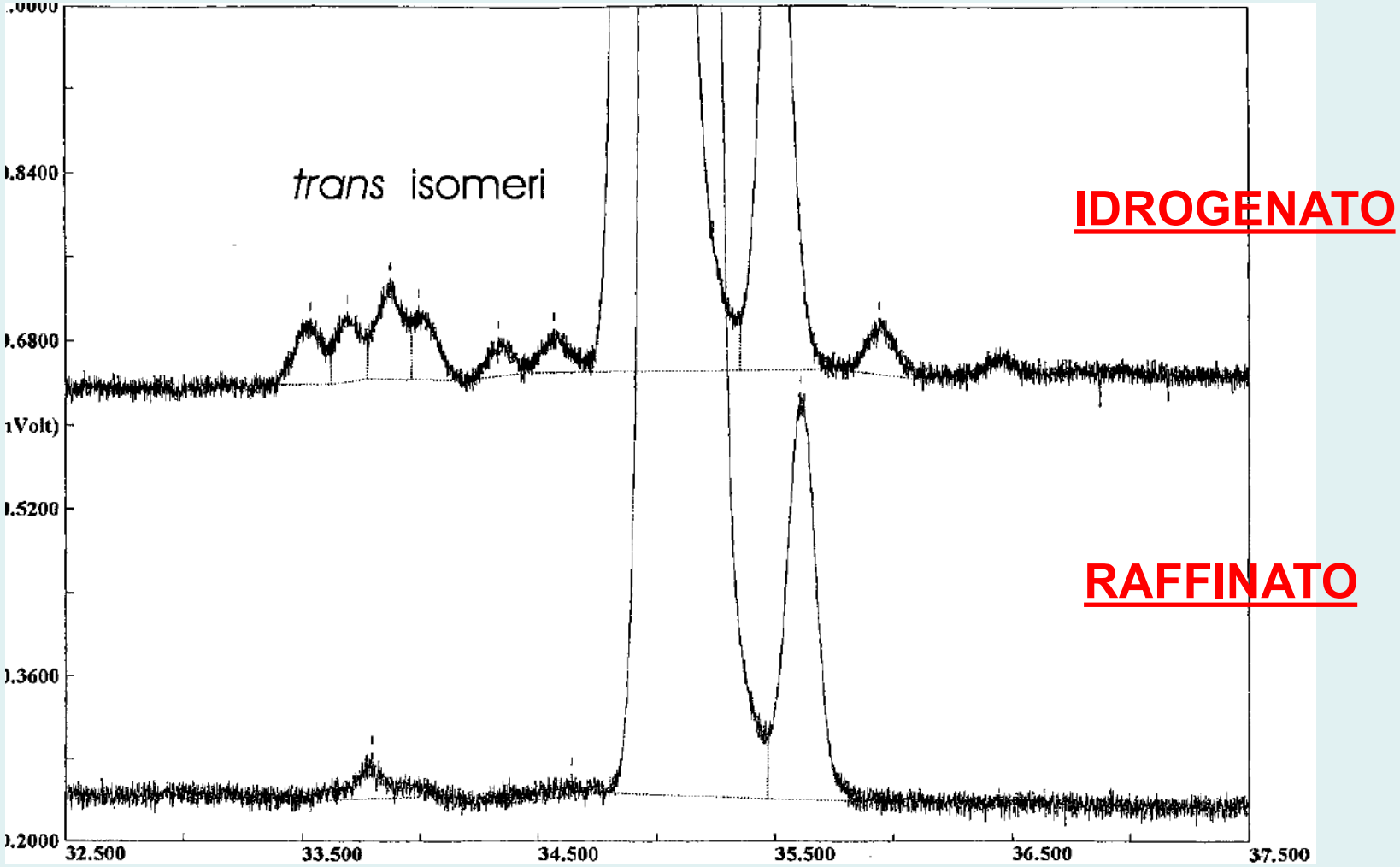


Separazione gas cromatografica ad elevata efficienza



N.G. FREGA, risultati non pubblicati.

Differenze strutturali fra *trans* isomeri nei grassi raffinati e in quelli idrogenati



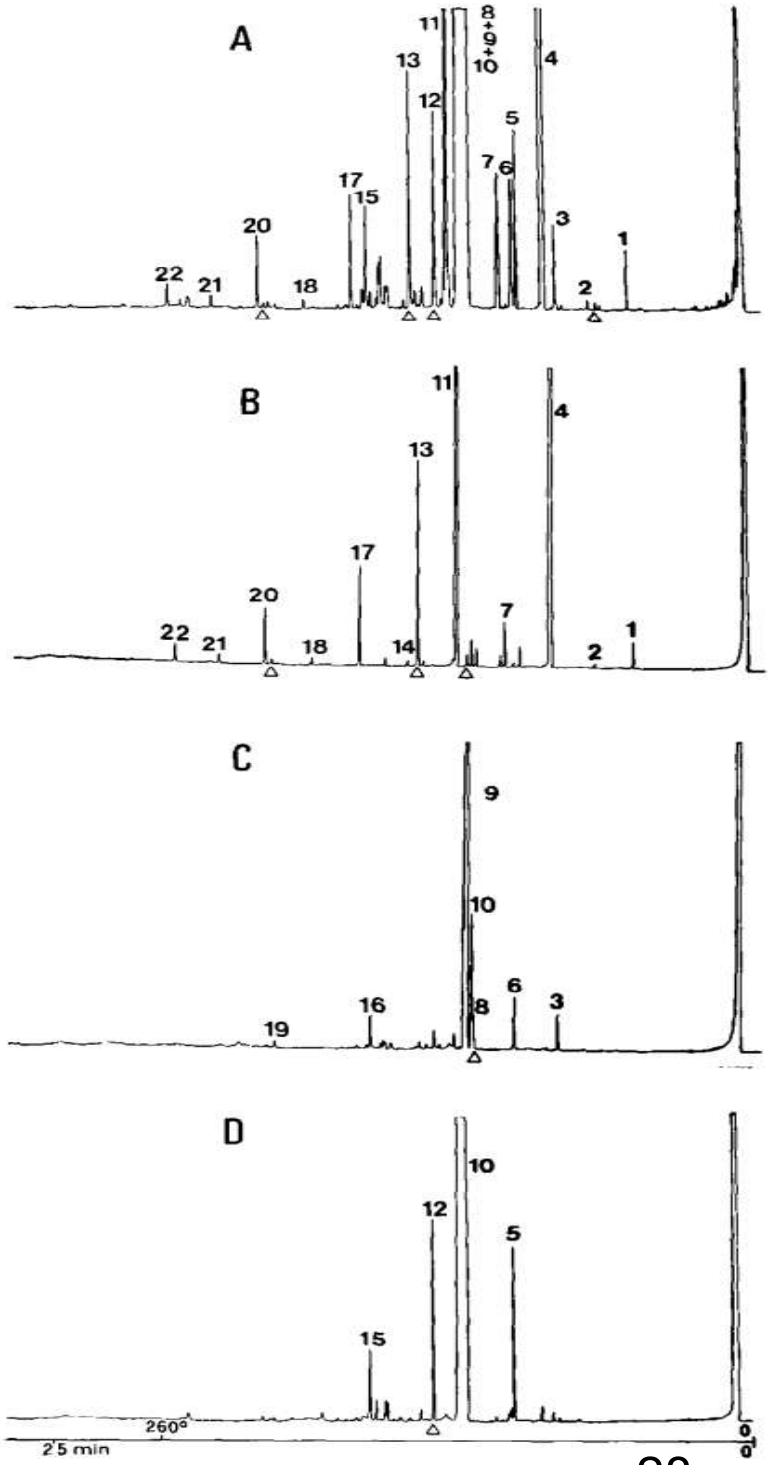
M.T. Rodriguez-Estrada et al., risultati non pubblicati.

Esteri metilici degli acidi grassi dell'olio di Malva

Separazione TLC/$AgNO_3$ ed analisi CGC (OV1) (colonna da 25 m)

A totale, B saturi, C monoinsaturi e D diinsaturi

G. LERCKER, L.S. CONTE, P. CAPELLA, N. FREGA,
La composizione dell'olio di malva (*Abutilon avicennae*, Gaertn.).,
Riv. Ital. Sostanze Grasse, 60, 753-759 (1983).



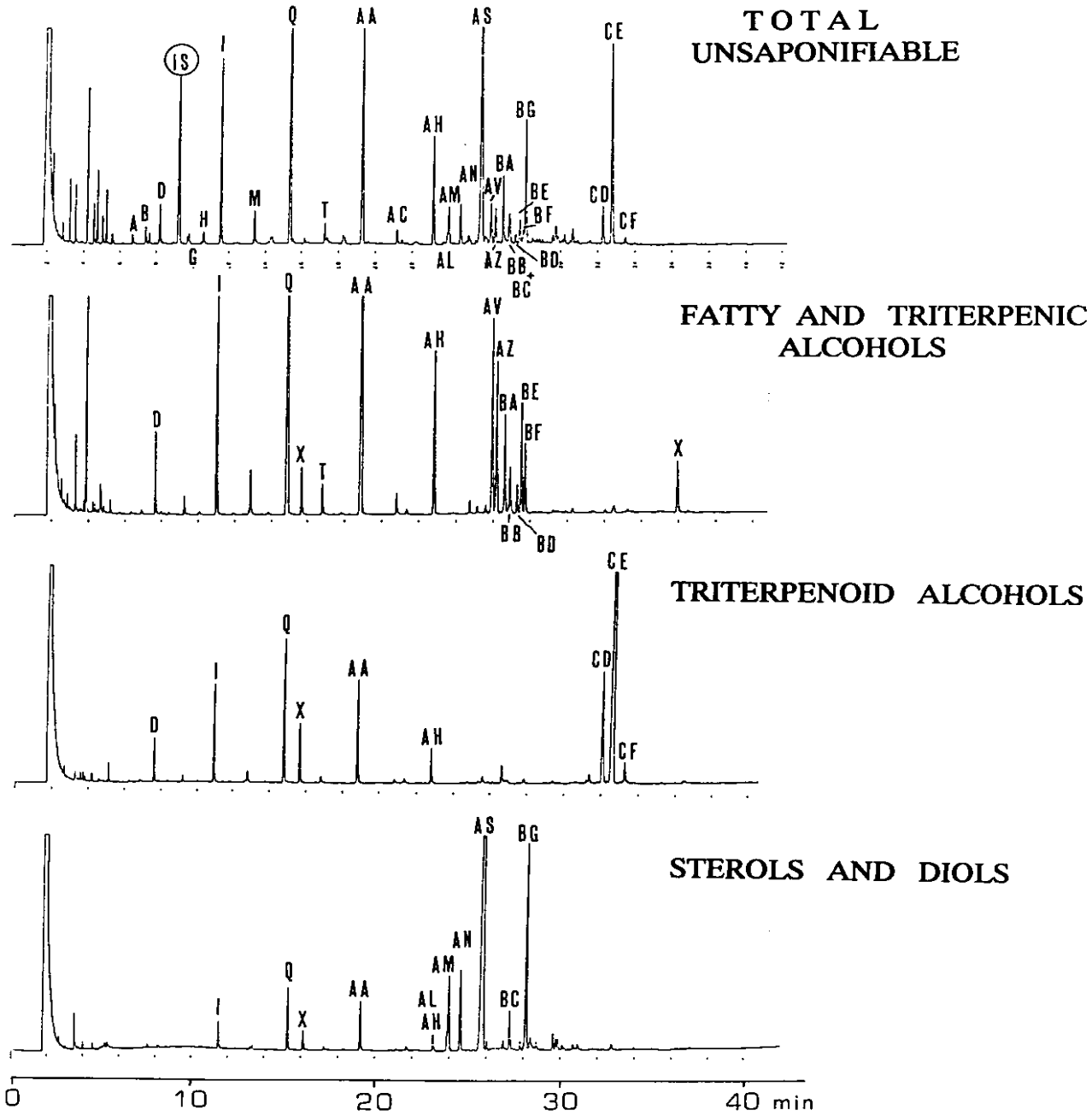
Relazione fra composizione e funzionalità delle membrane biologiche (piastrine)

- La **depressione**: correlata a membrane molto fluide (ricche di acidi grassi polinsaturi)
- L'**ischemia**: correlata a membrane molto rigide (ricche di acidi grassi saturi)
- Il caso dei bambini

Cocchi M., Tonello L., Lercker G. (2009). Platelet Stearic Acid in different population groups: biochemical and functional hypothesis, Nutr. clín. diet. hosp., 29(1):34-45.

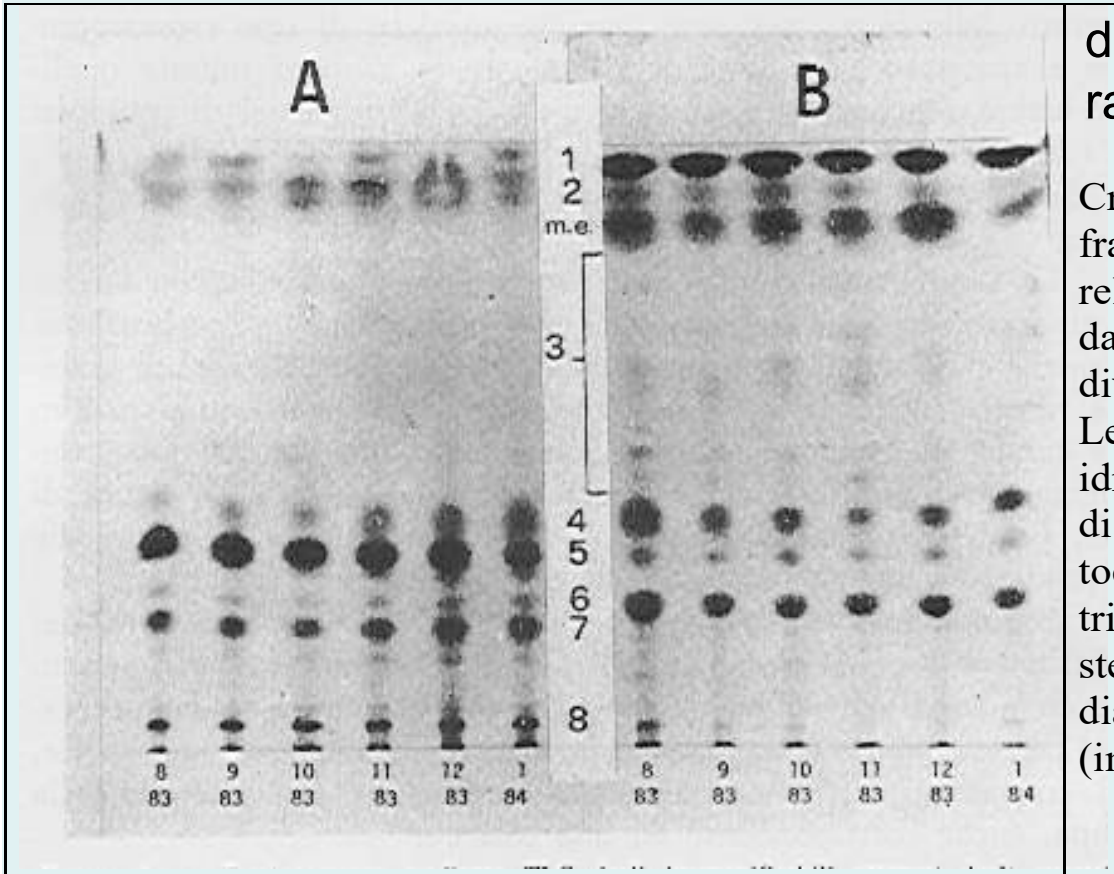
N. FREGA, F. BOCCI, G. LERCKER,
Direct gas chromatographic analysis of the unsaponifiable fraction of different oils, by using a polar capillary column., J. Am. Oil Chem. Soc., 69, 447-450 (1992).

COMPOSIZIONE DELL'INSAPONIFICABILE



Frazionamento dell'insaponificabile

ESOCARPO **ENDOCARPO-MESOCARPO**



Visualizzazione in TLC dei componenti degli insaponificabili dei lipidi di olive raccolte a stadi progressivi di maturazione

Cromatografia su strato sottile (TLC) del frazionamento (e confronto) degli insaponificabili relativi ai lipidi estratti dall'esocarpo (A) e dall'endocapo-mesocarpo (B) delle drupe di olivo, in diversi stadi della maturazione (da agosto a gennaio). Le macchie individuate sono: 1) componenti idrocarburici; 2) caroteni; m.e.) banda di esteri metilici di acidi grassi (impurezza dell'insaponificabile); 3) tocoferoli e tocotrienoli; 4) alcoli lineari + alcoli triterpenici (4,4'-dimetilsteroli); 5) 4-metilsteroli; 6) steroli (desmetilsteroli); 7) dialcoli triterpenici e 8) dialcoli triterpenici carbossilati (esteri metilici) (impurezza dell'insaponificabile).

N. FREGA, G. LERCKER, La composizione dei lipidi della drupa di olivo durante la maturazione. Nota II: La frazione insaponificabile., Agrochimica, 29, 310-321 (1985)

Analisi cGC dei tocoferoli

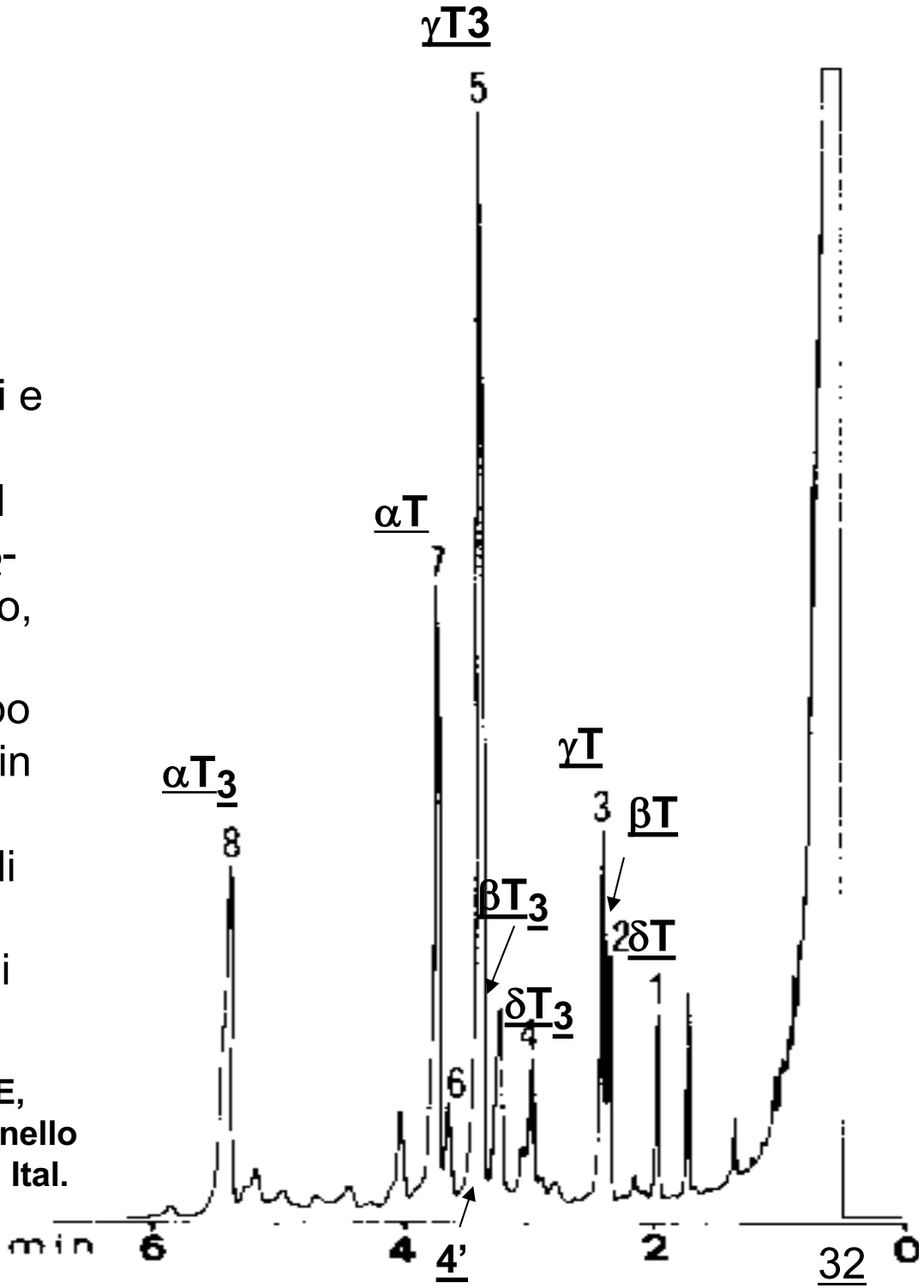
(picchi 1, 2, 3, 7)

e dei tocotrienoli

(picchi 4, 4', 5, 8)

Tracciato CGC di una miscela di tocoferoli e di tocotrienoli (da olio di palma e olio di vinaccioli). I componenti della struttura del tocolo sostituito sono: 1) δ-tocoferolo; 2) β-tocoferolo; 3) γ-tocoferolo; 4) δ-tocotrienolo, 5) α-tocoferolo; 6) β-tocotrienolo; 7) γ-tocotrienolo; 8) α-tocotrienolo. Colonna tipo "supported column open tubular" (SCOT) in vetro CGC di OV 17 lunga 15 m, di 0,25 mm di i.d. e di 0,10-0,15 µm di spessore di film (SCOT, con BaCO3). La colonna era regolata a 240 °C e con un flusso di elio di 2,5 ml/min

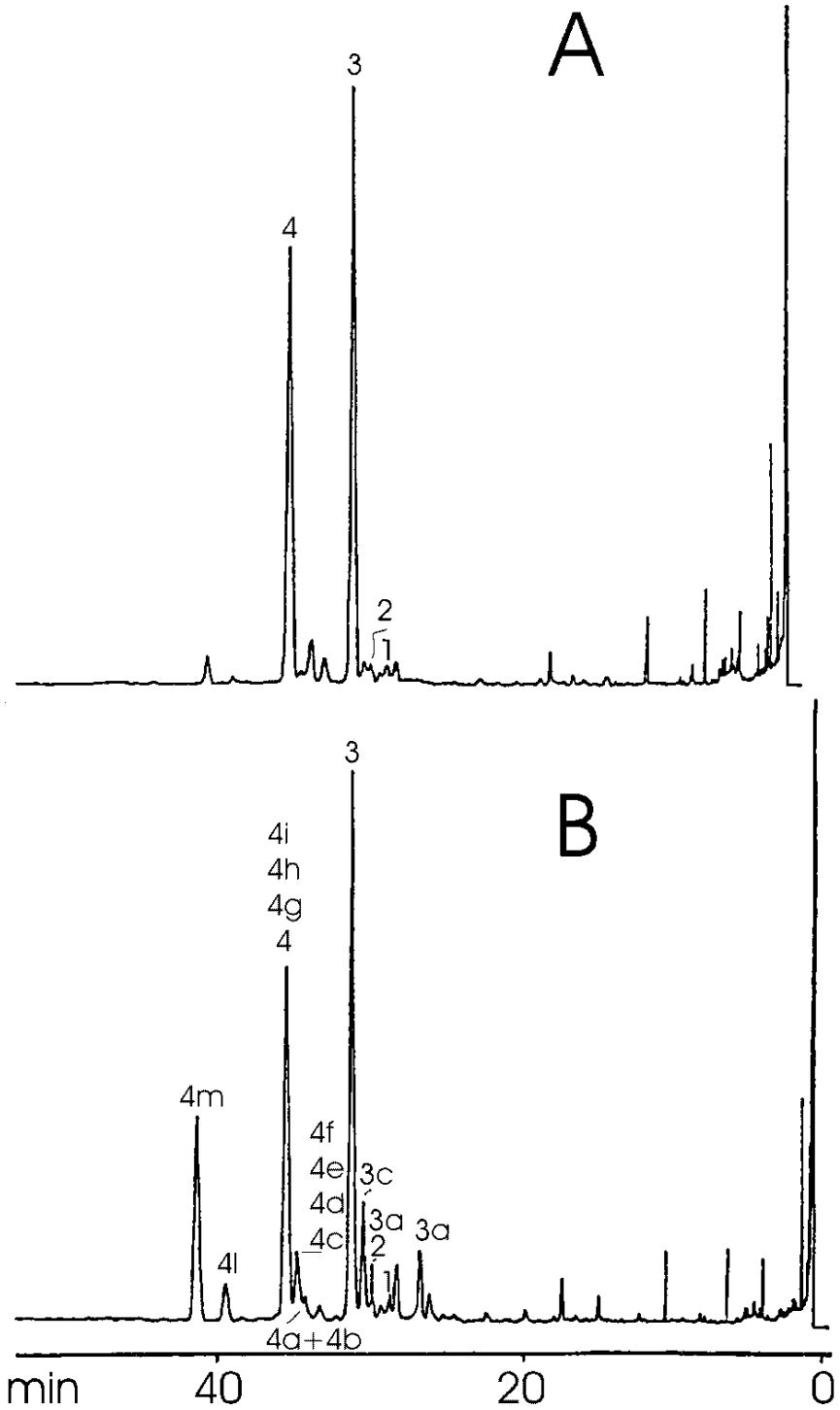
G. LERCKER, N. FREGA, P. CAPELLA, L.S. CONTE, La gascromatografia su colonne capillari (HRGC) nello studio dell'insaponificabile degli oli vegetali., Riv. Ital. Sostanze Grasse, 58, 324-330 (1981)



Caratteristiche della possibilità analitica

- Determinazione rapida e totale dei tocoferoli e dei tocotrienoli di lipidi naturali

- Separazioni sufficienti e non ancora migliorate. per questi tempi di analisi

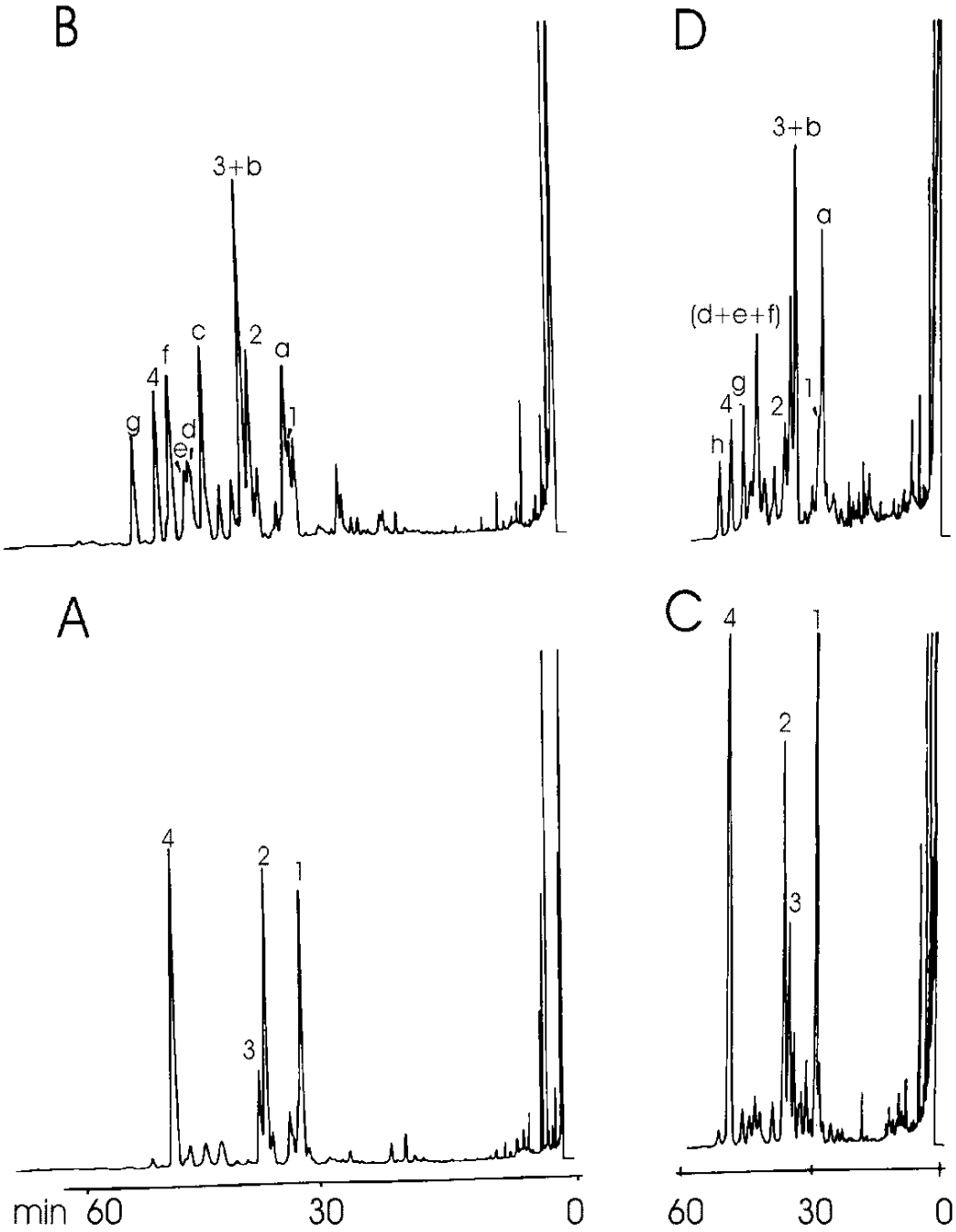


4.4’-dimetilsteroli

Tracciati CGC degli alcoli triterpenici (4,4’-dimetilsteroli) di un olio di mais, prima (tracciato A) e dopo idrogenazione industriale (tracciato B). Componenti indicati: 1) β-amirina; 2) α-amirina; 3) cicloartenolo; 4) 24-metilencicloartanolo; 3a), 3b) e 3c) sono composti di neoformazione generati per isomeria del cicloartenolo; 4a) – 4m) sono isomeri del 24-metilencicloartanolo.
La colonna era capillare di vetro di SE 52 lunga 30 m, di 0,32 mm di i.d. e 0,2 µm di spessore di film ed era impiegata in temperatura isoterma a 260 °C, con un flusso di elio di 1 ml/min30

A = naturale
B = dopo idrogenazione

A. STROCCHI, G. MARASCIO, Structural modification of 4,4'-dimethyl sterols during the hydrogenation of edible vegetable oils., Fat Sci. Technol., 95, 293-299 (1993)



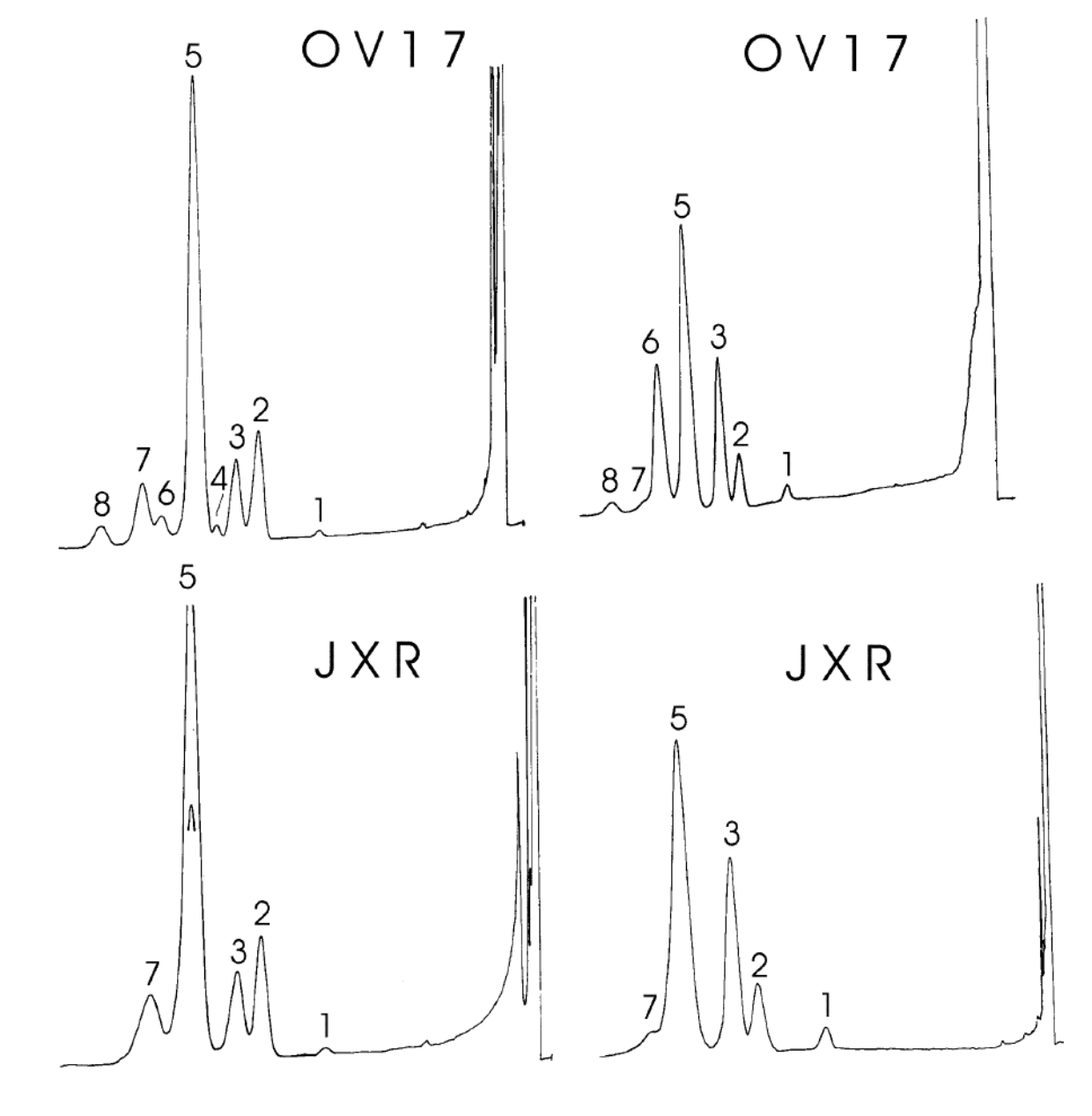
4-metilsteroli

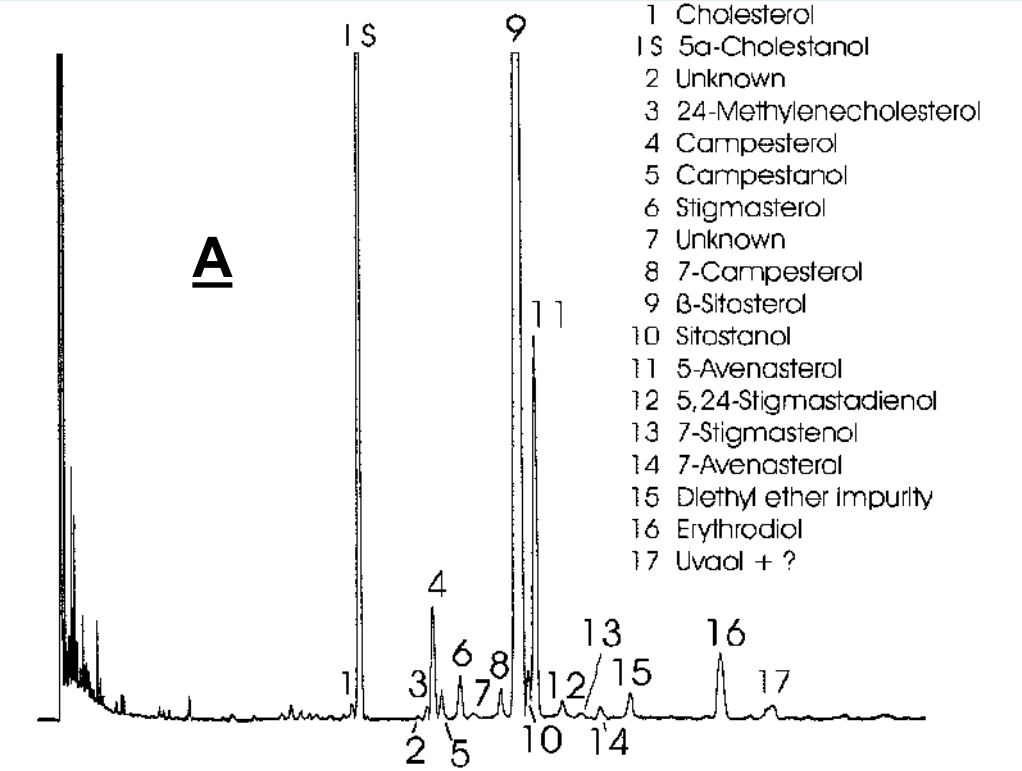
Tracciati CGC dei 4-metilsteroli di un olio di mais: prima dell'idrogenazione (tracciati A e C) e dopo idrogenazione (tracciati B e D), ottenuti con l'impiego di due colonne capillari di vetro: colonna di SE 52 (tracciati A e B) lunga 30 m, di 0,32 mm di i.d. e 0,2 µm di spessore di film, e colonna di FFAP (tracciati C e D) lunga 20 m, di 0,32 mm di i.d. e con uno spessore di film di 0,2 µm. Le colonne hanno funzionato in temperatura isoterma a 260 °C e 220 °C, rispettivamente, e il flusso di elio era di 1 ml/min e 1,5 ml/min, rispettivamente. Componenti indicati: 1) obtusifoliolo; 2) gramisterolo; 3) cicloeucalenolo; 4) citrostadienolo; a), b) ed e) sono isomeri di neoformazione a partire in tutto o in parte dall'obtusifoliolo (b, deriva anche da un isomero dal gramisterolo); f) isomero del citrostadienolo; c) isomero dal gramisterolo; g) isomero del citrostadienolo

Col. SE52 A = naturale
B = dopo idrogenazione
Col. FAAP C = naturale
D = dopo idrogenazione

A. STROCCHI, Oli vegetali e corrispondenti grassi idrogenati: variazioni quali-quantitative delle composizioni degli steroli, dei 4a-metil steroli e dei 4,4'-dimetil steroli., Riv. Ital. Sostanze Grasse, 64, 401-409 (1987)

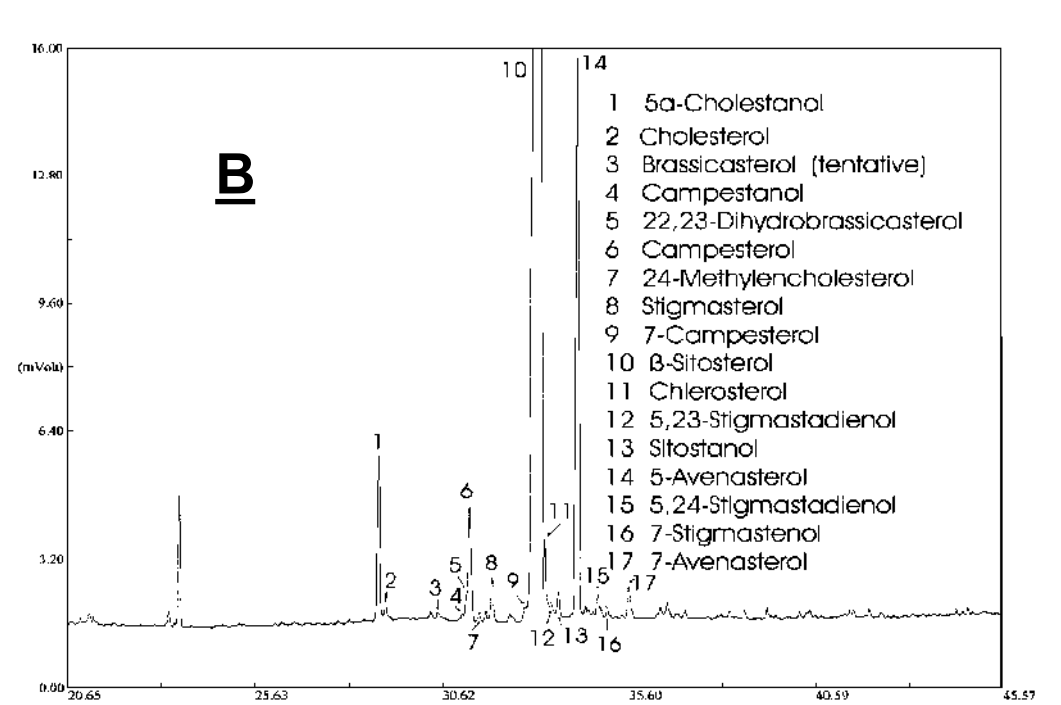
Steroli (colonna GC impaccata)





Colonna di SE 52 di 25 m (Metodi Ufficiali CE)

Analisi cGC degli steroli

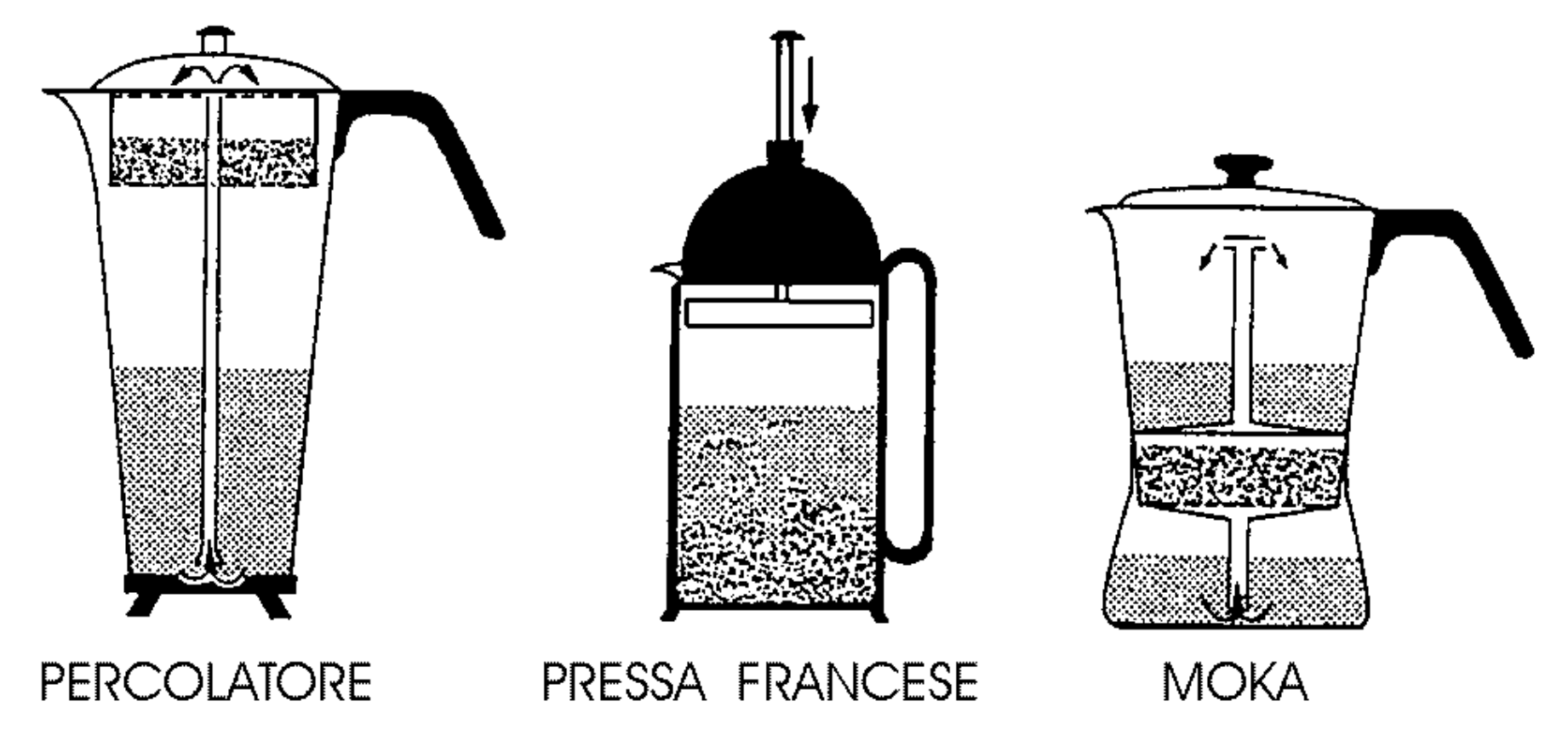


Colonna di TAP di 25 m

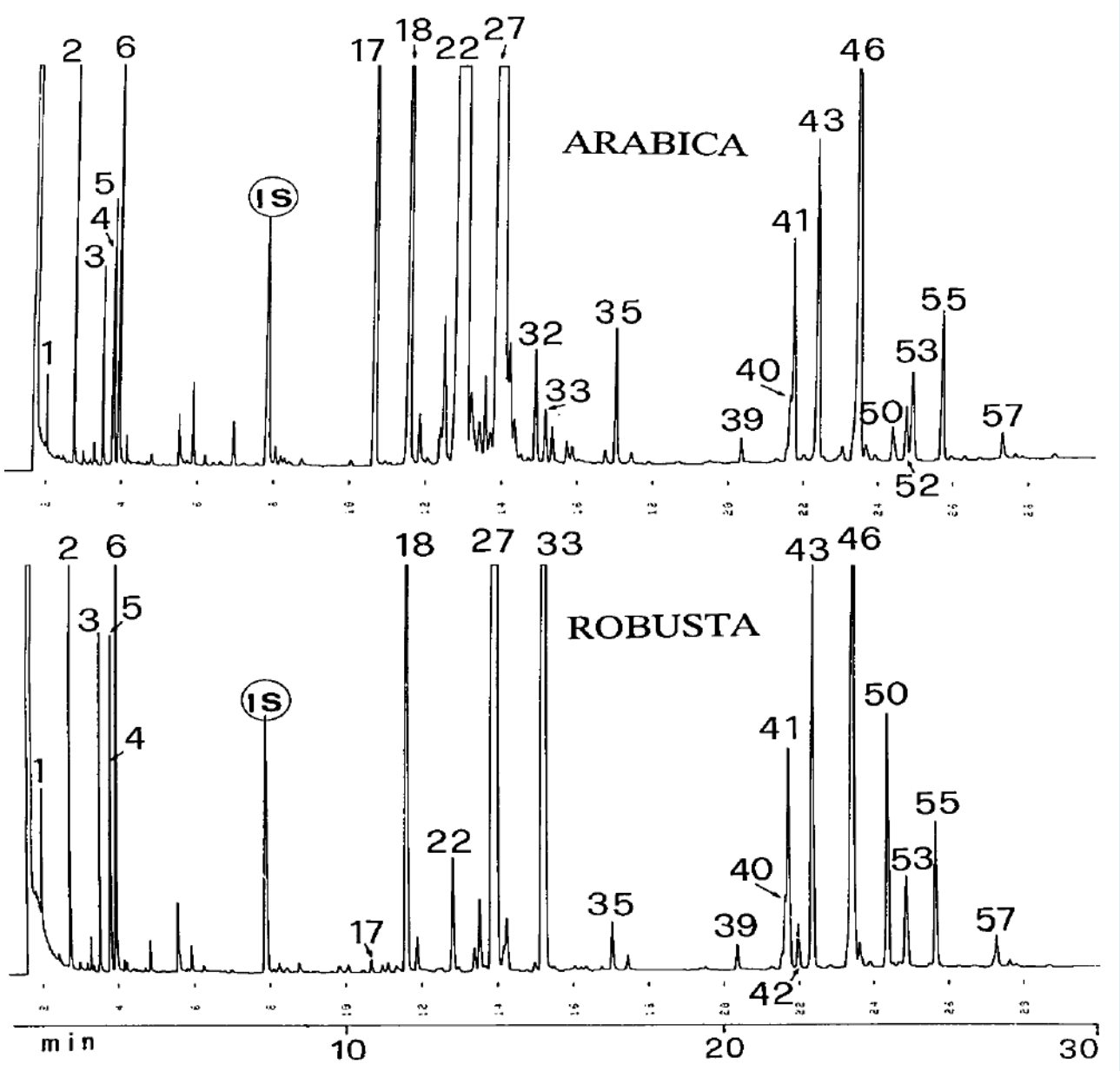
M.T. RODRIGUEZ-ESTRADA, N. FREGA, G. LERCKER, Applications on thermostable polar capillary columns., Grasas Y Aceites, 53(1), 76-83 (2002)

37

Alcune modalità per ottenere la tazzina di caffè a livello casalingo



R. UGHERT, G. van der WEG, T.G. KOSMEIJER-SCHUIL, P. van de BOVENKAMP, R. HOVENIER, M.B. KATAN, Levels of the cholesterol-elevating diterpenes Cafestol and Kahveol in various coffee brews., J. Agric. Food Chem., 43, 2167-2172 (1995)



Fattore X

DITERPENOIDI DEL CAFFÉ

Cafestol (22)

Kahweol (27)

16-O-methyl cafestol (33)

N. FREGA, F. BOCCI, G. LERCKER, High resolution gas chromatographic method for determination of Robusta coffee in commercial blends, J. High Resol. Chrom., 17, 303-307 (1994)

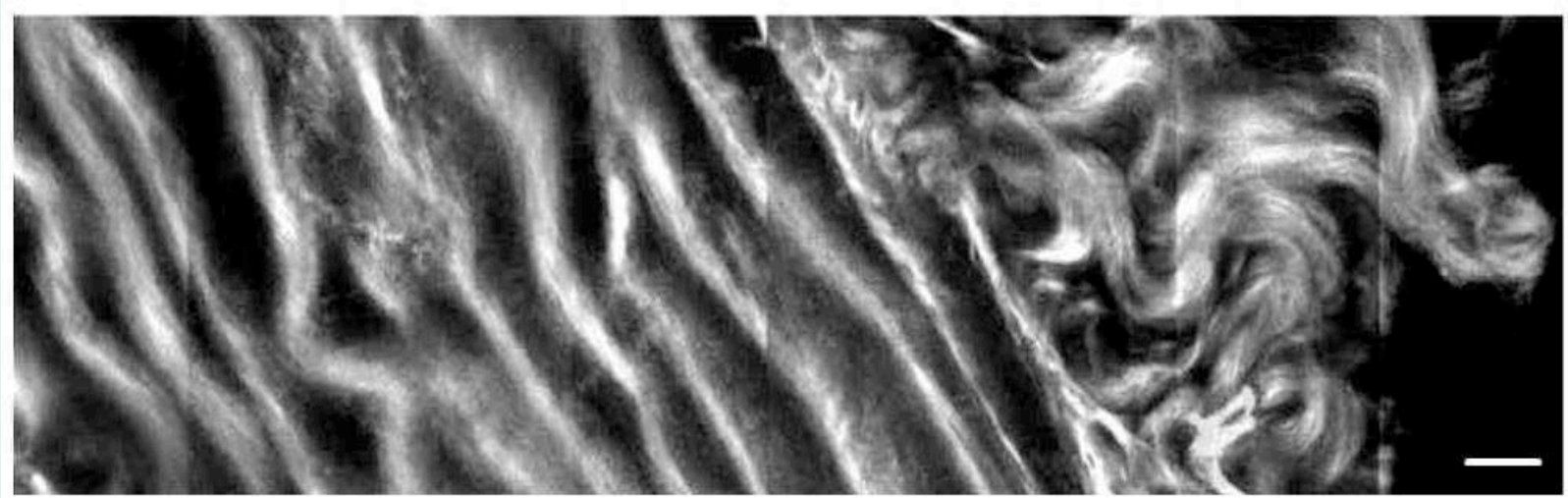
D. PACETTI, E. BOSELLI, M. BALZANO, N.G. FREGA , Authentication of Italian Espresso coffee blends through the GC peak ratio between kahweol and 16-O-methylcafestol., Food Chem., 135(3) , 1569-1574 (2012)

Sezioni di pareti di aorta di ratto a contatto con sostanze ossidate

con antiossidanti

SANGUE

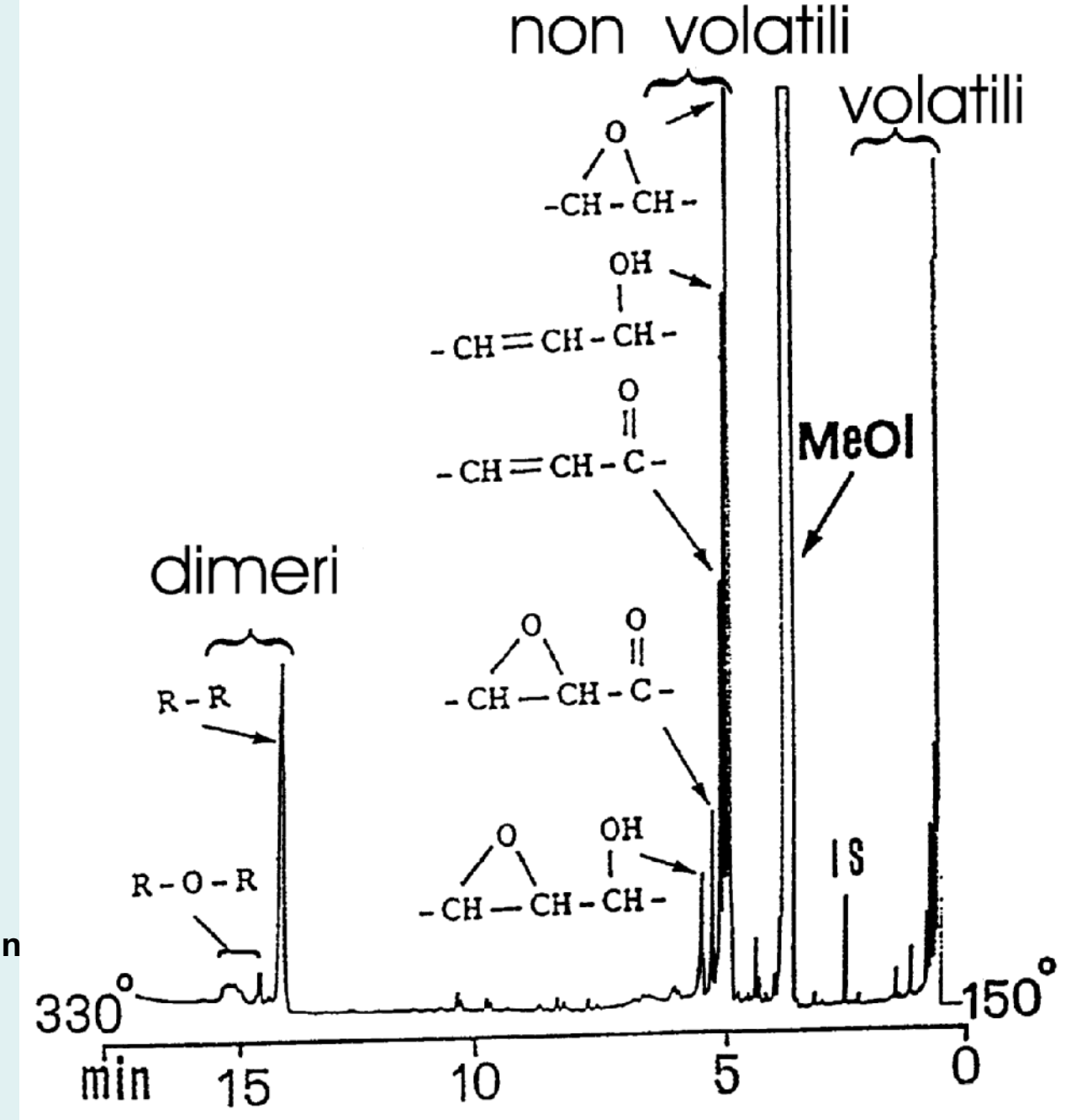
senza antiossidanti



SANGUE

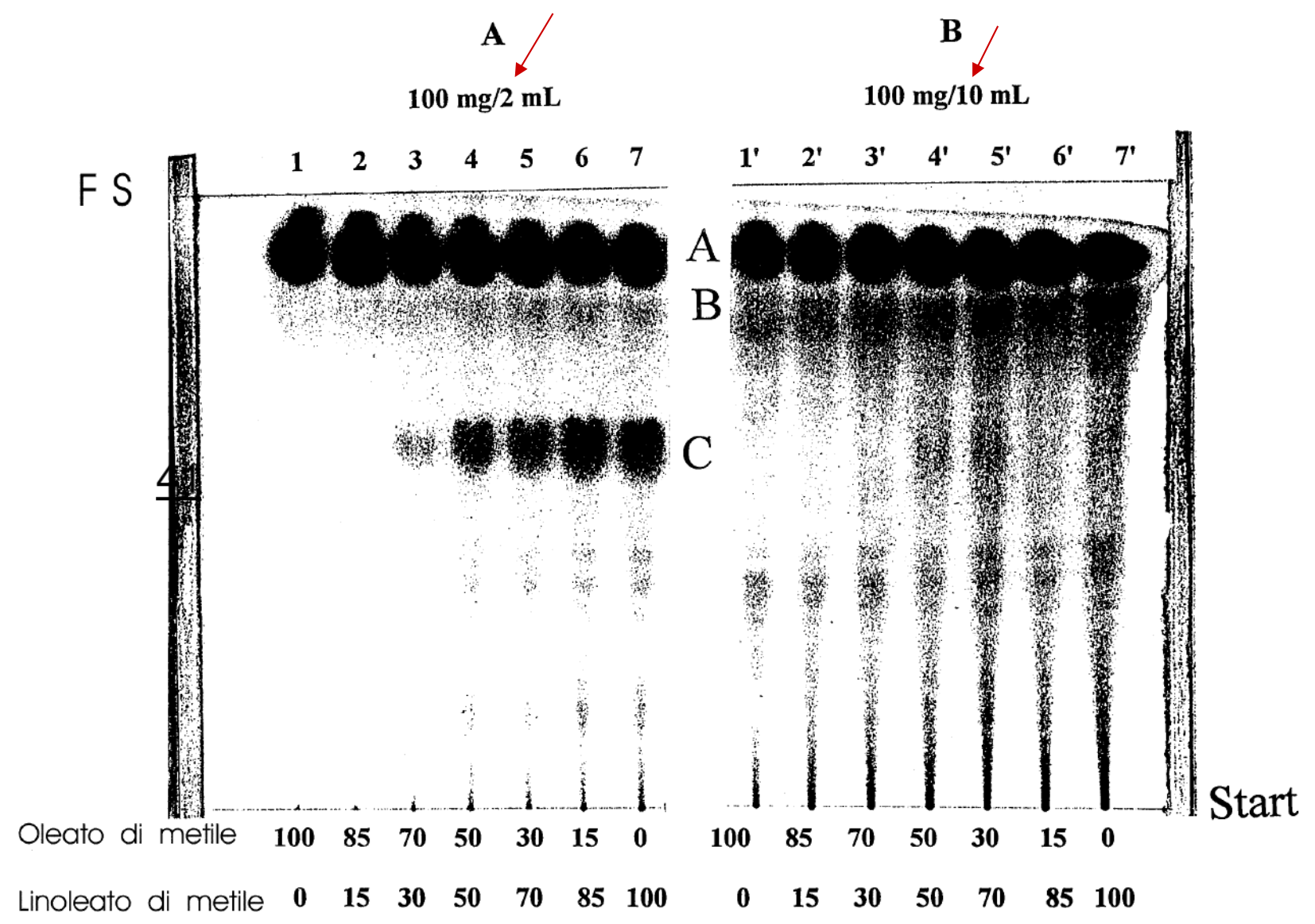
da T. Parasassi et al., Free Radical Biology & Medicine, 28, 1589-1597 (2000)

Ossidazione dell'oleato di metile



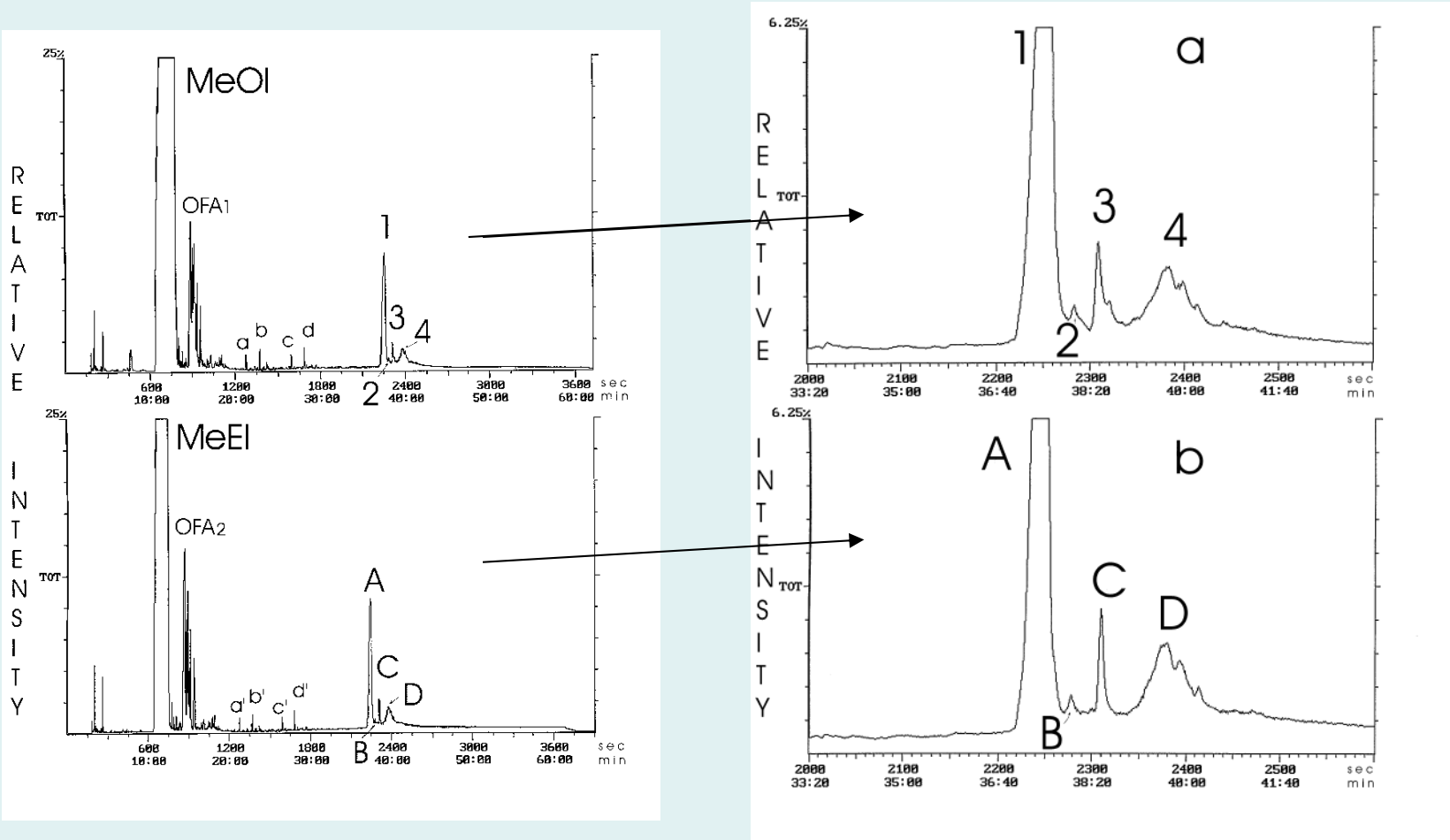
G. LERCKER, Short capillary columns in the analysis of lipids., J. Chromatogr., 279, 543-548 (1983).

La quantità di ossigeno disponibile



K. AL-ISMAIL, M.F. CABONI, M.T. RODRIGUEZ-ESTRADA, G. LERCKER, The influence of oxygen content on the extent of oxidation of model systems of mixtures of methyl oleate and methyl linoleate with different proportion., Grasas Y Aceites, 50, 448-453 (1999).

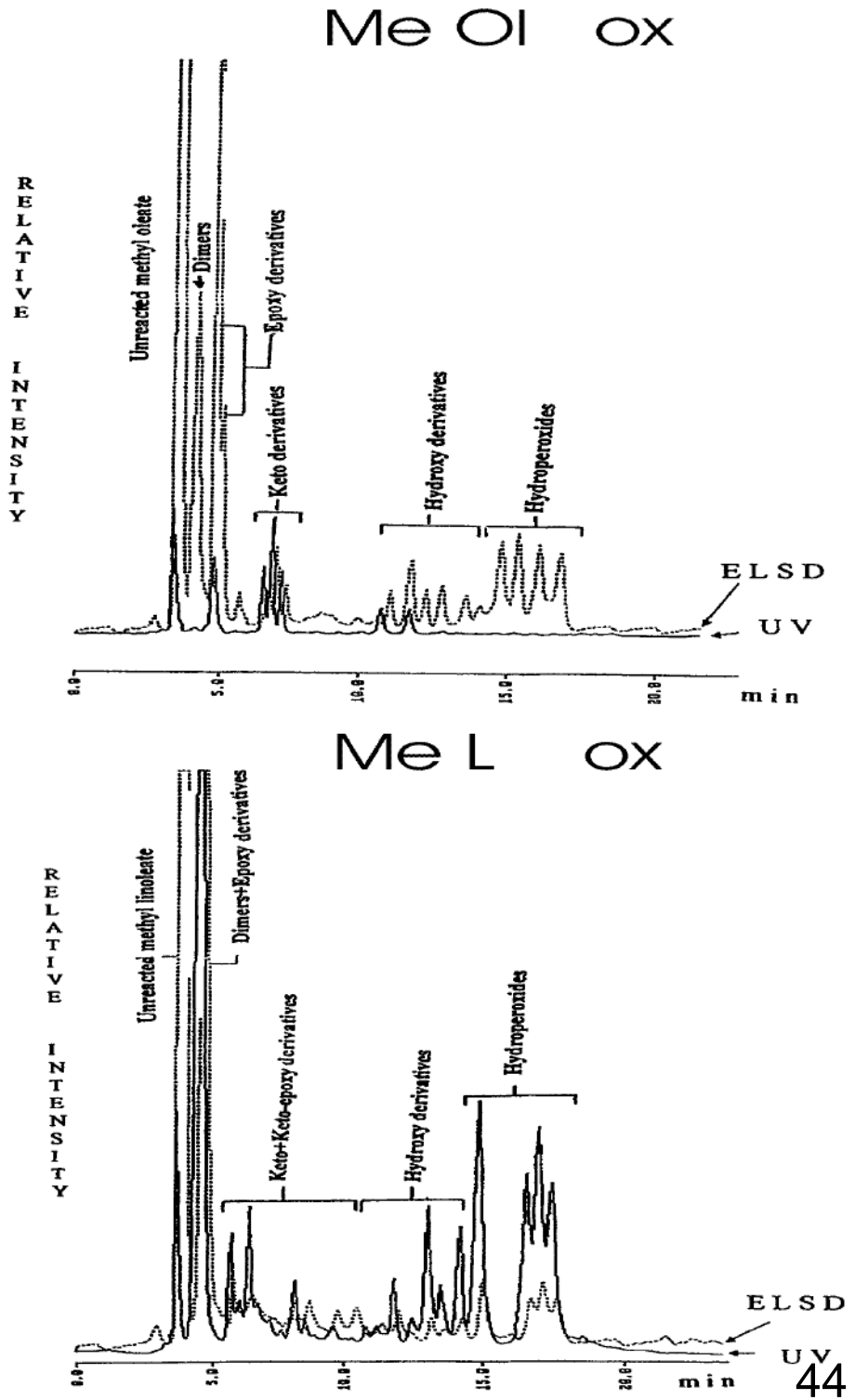
Complessità dei componenti a struttura dimerica



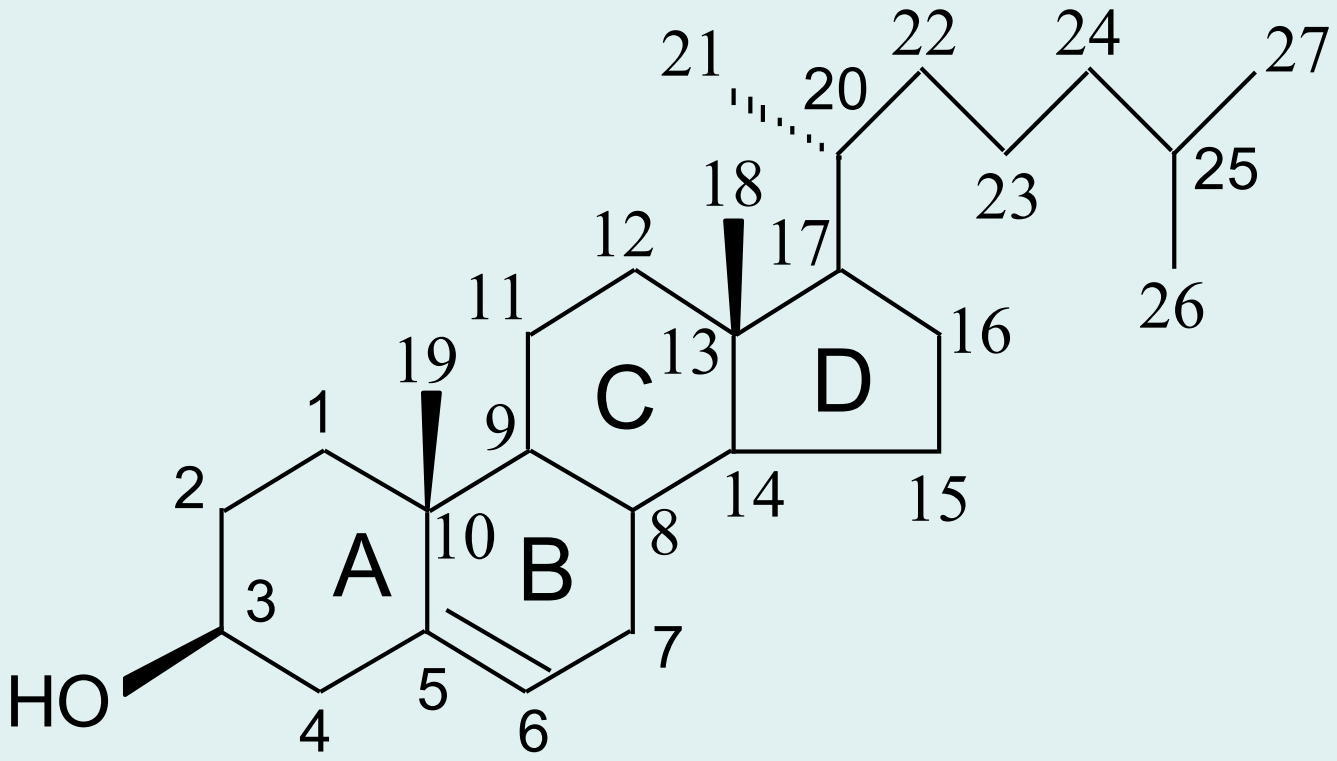
G. LERCKER, M.T. RODRIGUEZ-ESTRADA, M. BONOLI, Analysis of the oxidation products of *cis*- and *trans*-octadecenoate methyl esters by capillary gas chromatography-ion-trap mass spectrometry. I. Epoxide and dimeric compounds., J. Chromatogr. A, 985, 333-342 (2003).

Ossidazione dell'oleato di metile e del linoleato di metile (analisi HPLC)

K. AL-ISMAIL, M.F. CABONI, G. LERCKER, HPLC analysis of thermally oxidized lipid model systems and vegetable oils using light scattering detector., Riv. Ital. Sostanze Grasse, 75, 235-239 (1998).

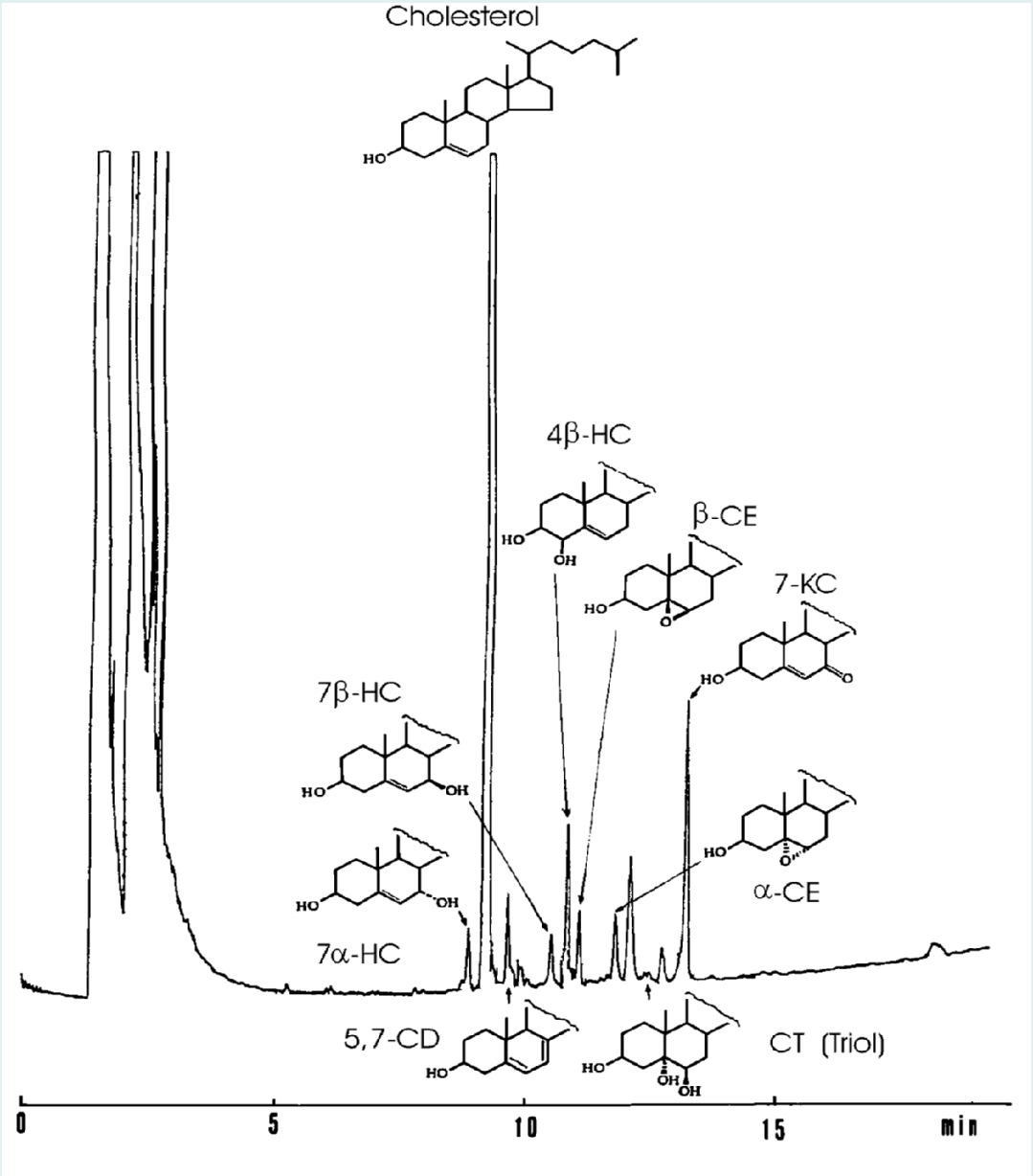


LA MOLECOLA DEL COLESTEROLO



Cholesterol

Ossidazione del colesterolo



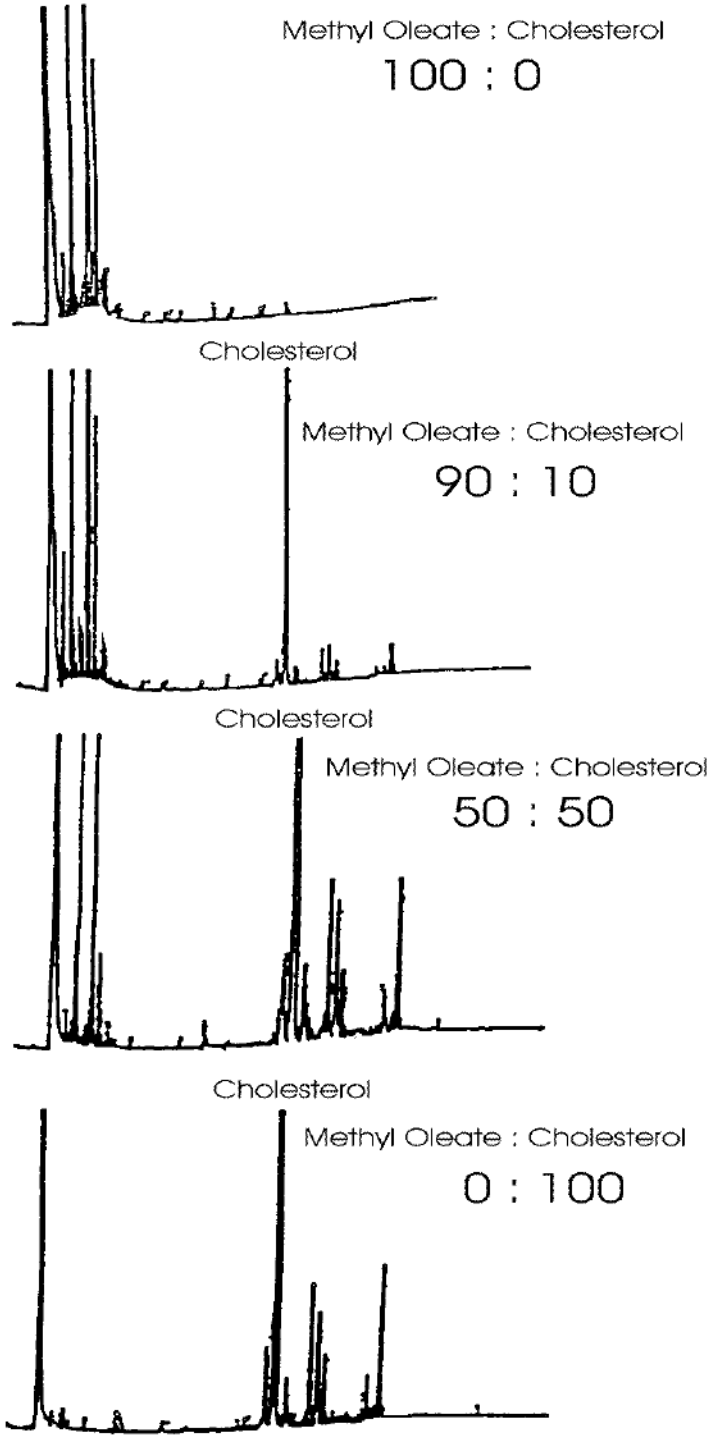
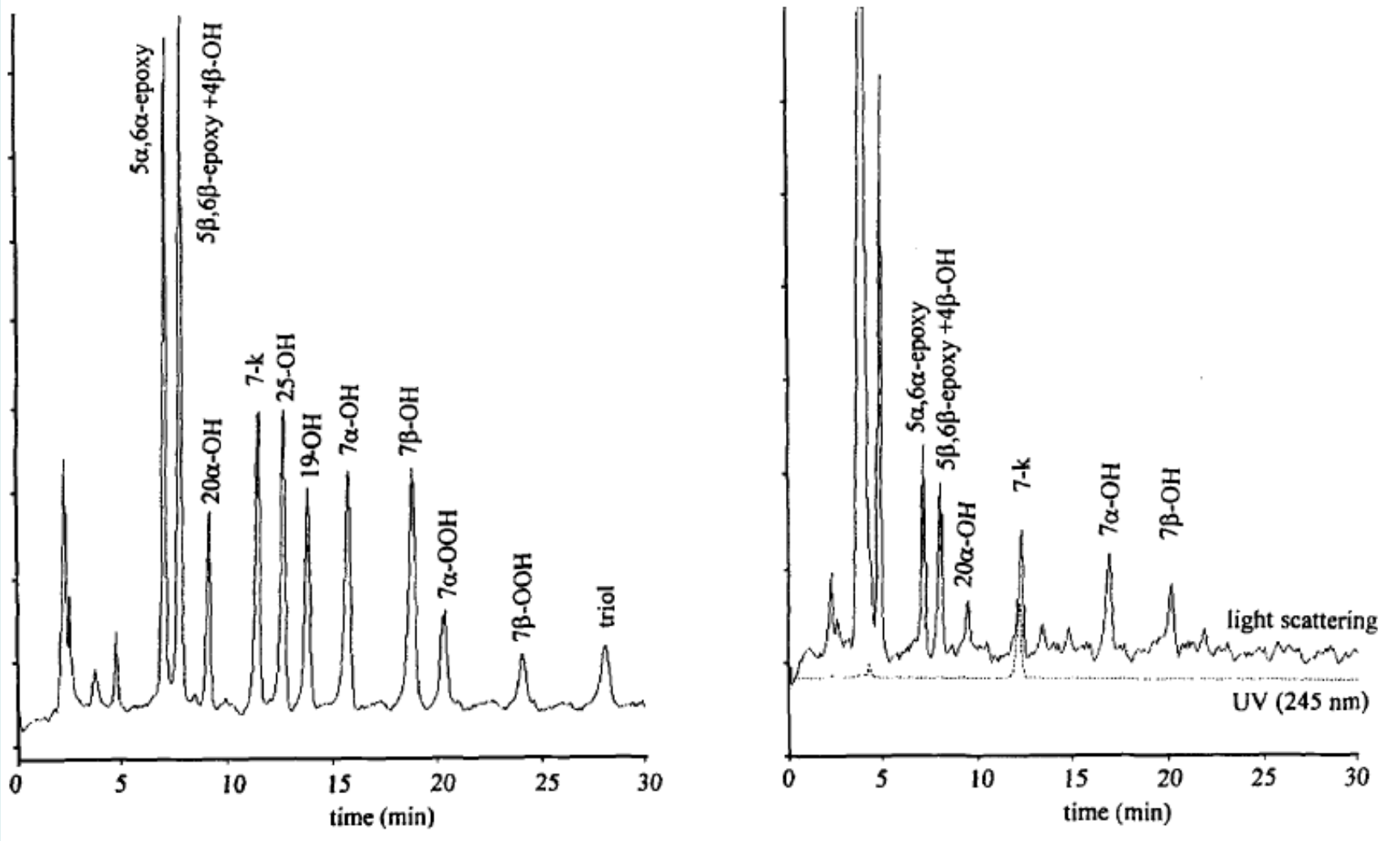


Figure 1
HPLC-light scattering detector trace of the COPs standard mixture containing 5c~,6et epoxide, 513,613-epoxide, 413-OH, 20ct-OH, 7-k, 25-*OH, 19-OH, 7~x-OH,* 713-OH, 7~-OOH, 7J3-OOH and *triol.* See Materials and Reagents section for compound abbreviations.

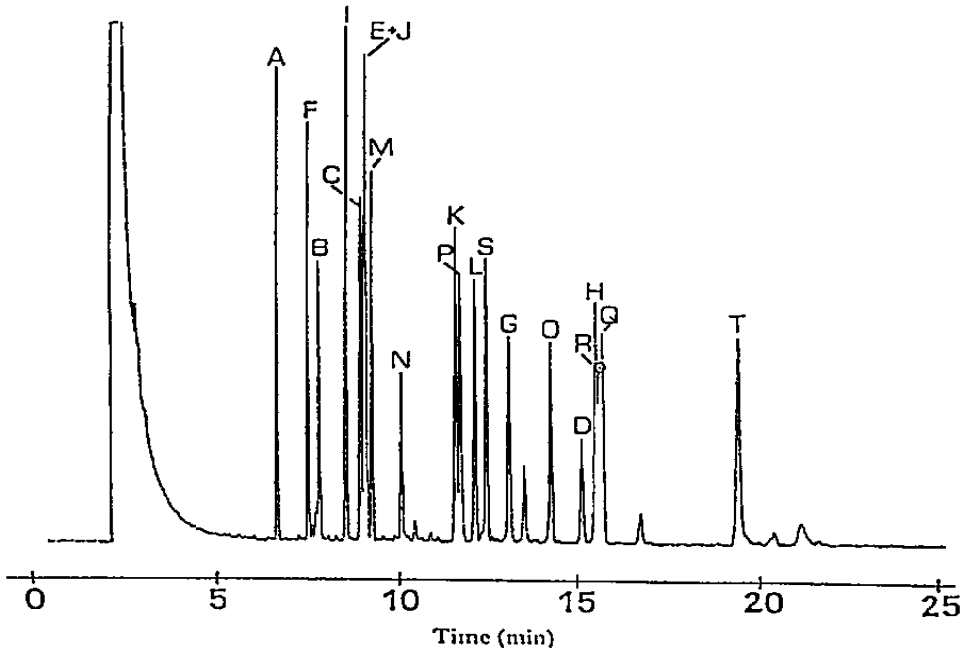
Figure 2
HPLC traces of the unsaponifiable fraction of egg yolk powder, obtained with LS and UV (245 nm) detectors. See Materials and Reagents section for *compound* abbreviations.



M.F. CABONI, A. COSTA, M.T. RODRIGUEZ-ESTRADA, G. LERCKER, High performance liquid chromatographic separation of cholesterol oxidation products., Chromatographia, 46, 151-155 (1997)

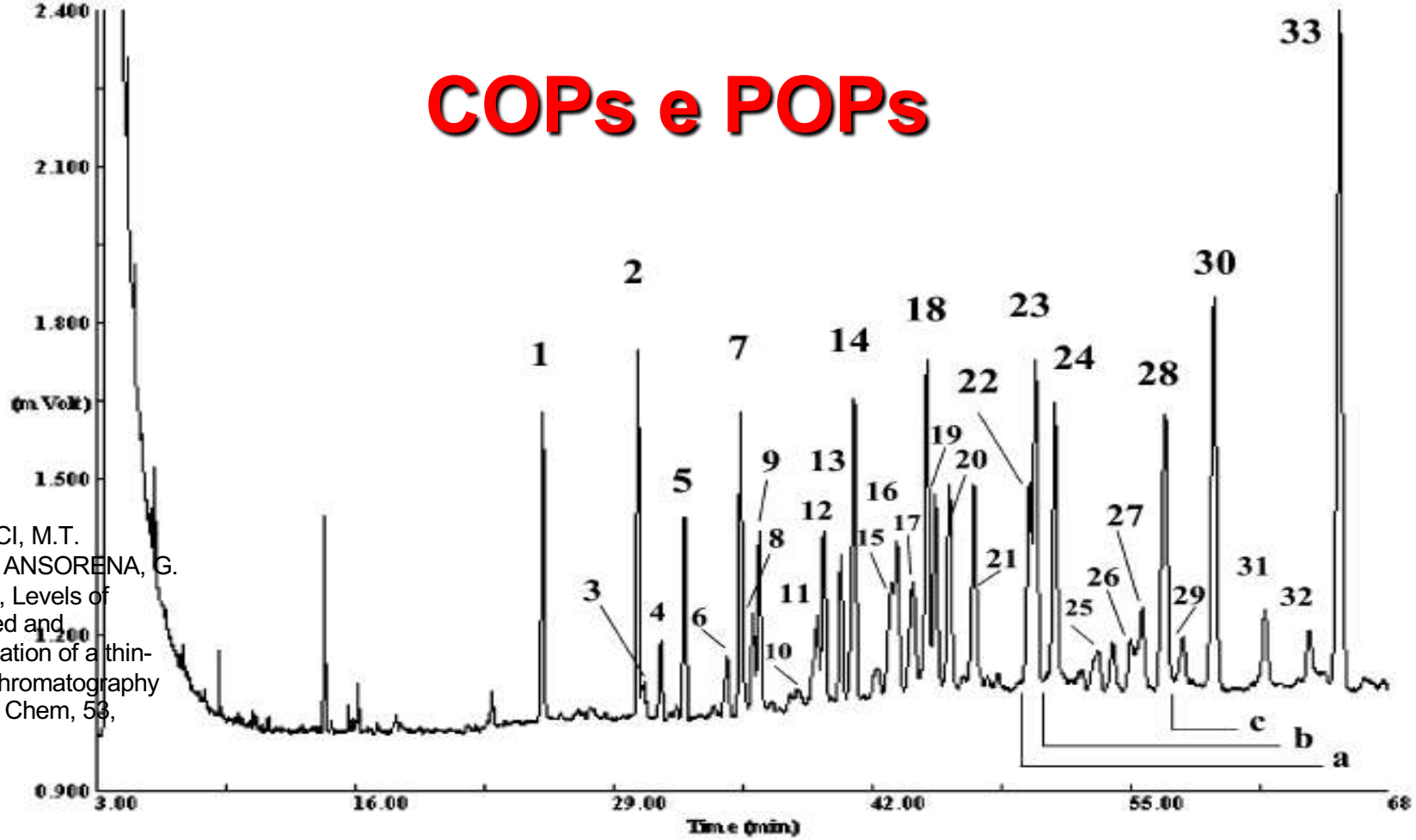
Analisi CGC di una miscela di standard di “ossisteroli” (prodotti di ossidazione del colesterolo, o COPs), sotto forma di TMS derivati. Colonna in silice fusa di TAP lunga 25 m, di 0,25 mm di i.d. e con uno spessore di film di 0,1 µm. La colonna ha lavorato in temperatura programmata da 245 °C fino a 265 °C con un gradiente di 3,5 °C/min, poi fino a 290 °C con un gradiente di 2,5 °C/min e un flusso di elio di 0,7 ml/min

A	5α-cholestane
B	cholesta-3,5-diene
C	dihydrocholesterol
D	cholesta-3,5-diene-7-one
E	cholesterol
F	7α-OH
G	4-cholesten-3-one
H	5-cholesten-3-one
I	19-OH
J	7β-OH
K	5β,6β-epoxy
L	5α,6α-epoxy
M	4β-OH
N	20α-OH
O	5α-cholestan-3β-ol-7-one
P	triol
Q	5α-cholestan-3β-ol-6-one
R	7-k
S	25-OH
T	cholestan-3β,5α-diol-6-one



M.T. RODRIGUEZ-ESTRADA, M.F. CABONI, A. COSTA, G. LERCKER, Gas chromatographic analysis of cholesterol oxidation products on a thermostable medium polar capillary column., J. High Res. Chromatogr., 21, 509-512 (1998)

COPs e POPs



A. CONCHILLO, L. CERCACI, M.T. RODRGUEZ-ESTRADA, D. ANSORENA, G. LERCKER, I. ASTIASARÁN, Levels of phytosterol oxides in enriched and nonenriched spreads: application of a thin-layer chromatography-gas chromatography methodology. J. Agric. Food Chem, 53, 7844-7850 (2005)

GC trace of a standard mixture of commercially available COPs and synthesized POPs obtained by thermoxidation. Triols are not included in this GC trace, but their retention times (RT) are indicated (a, RT of campestanetriol; b, RT of stigmastentriol; and c, RT of sitostanetriol). For GC conditions, refer to the Experimental Section. Peak identification: 1, 7α-hydroxycholesterol; 2, 19-hydroxycholesterol (internal standard); 3,7α-hydroxycampesterol; 4, 7α-hydroxystigmasterol; 5, 7β-hydroxycholesterol; 6, 7α-hydroxysitosterol; 7, 5β,6β-epoxycholesterol; 8, unknown; 9, 5α,6αepoxycholesterol; 10, 7β-hydroxycampesterol; 11, 7β-hydroxystigmasterol; 12, unknown; 13, unknown; 14, cholestanetriol; 15, 5β,6β-epoxycampesterol; 16, side chain-hydroxycampesterol (tentative); 17, 5α,6α-epoxycampesterol; 18, 5β,6β-epoxystigmasterol + 7β-hydroxysitosterol; 19, side chain hydroxystigmasterol (tentative); 20, 5α,6α-epoxystigmasterol; 21, 7-ketocholesterol; 22, 5β,6β-epoxysitosterol; 23, side chain-hydroxysitosterol (tentative); 24, 5α,6α-epoxysitosterol; 25, 4-campesten-6α–ol-3-one (tentative); 26, 6-ketocampestanol; 27, 4-stigmasten-6α-ol-3-one (tentative); 28, 7-ketocampesterol; 29, 6-ketostigmastenol; 30, 7-ketostigmasterol; 31, 4-sitosten-6αol-3-one (tentative); 32, 6-ketositostanol; and 33, 7-ketositosterol.

CARNI ROSSE ESPOSTE ALLA LUCE

Presenze di COPs

Fette di carne di	Condizione di illuminazione	COPs identificato	COP singolo µg/g di lipidi	COPs totali µg/g di lipidi	COPs totali Mg/g muscolo
Bovino	Luce fluorescente "calda", 8 ore in atmosfera normale e in MAP (32% di O_2) per 8 giorni. Film trasparente	7α-HC 7β-HC β-CE α-CE 20-HC 7-KC	9 – 31 10,5 – 41,5 7,4 – 25 0,8 – 5,6 0,9 – 18 18 – 58	49 – 113 Atmosfera normale 120 – 157 MAP	0,09 – 0,22 Atmosfera normale 0,22 – 0,33 MAP
Cavallo	Lampada fluorescente a luce di giorno, in atmosfera normale per 8 ore. Film trasparente e film rosso	7α-HC 7β-HC β-CE α-CE triolo 7-KC	36 – 66 34 – 77 15,5 – 51 5,5 – 1,7 0 – 2,8 46 -105	233 – 317 film trasparente 139 – 173 film rosso	7,2 – 7,9 film trasparente 3,8 – 5,5 film rosso
Suino	Lampada fluorescente a luce di giorno, per 8 ore in atmosfera normale. Film trasparente	7α-HC 7β-HC β-CE α-CE 7-KC	0,9 – 2,1 1,4 – 3,2 1,6 – 4,1 2,0 – 3,2 1,7 – 4,4	9 – 16 al buio 11 – 16 alla luce	0,5 – 1,1 al buio 0,6 – 0,9 alla luce
Tacchino	Film trasparente Luce fluorescente "calda" /a luce di giorno , in atmosfera normale per 0-11 giorni	7α-HC 7β-HC β-CE α-CE triolo 7-KC	3,6 – 57 4,8 – 71 7 – 53 1,6 – 14,2 1,2 – 5,3 5,1 - 85	24 – 183 al buio 38 – 142 alla luce"calda" 49,5 – 283 luce di giorno	0,03 – 6,8 al buio 0,055 – 5,3 alla luce "calda" 0,072 – 10,0 luce di giorno
Sardina	Lampada fluorescente a luce di giorno, per 4 ore a 4 °C in atmosfera normale Film trasparente	7α-HC 7β-HC β-CE α-CE triolo 7-KC	3,2 – 10,4 4,8 – 16,0 5,9 – 21,8 3,0 – 8,0 0,7 – 3,6 6,0 – 19,1	61,3 – 76,2 al buio 51,3 – 58,7 luce di giorno	1,5 – 2,5 al buio 2,2 – 3,7 luce di giorno

Boselli E., Cardenia V., Rodriguez-Estrada M.T., Cholesterol photosensitized oxidation in muscle foods., Eur. J. Lipid Sci. Technol., 114, 644-656 (2012)

Il caso della carne di cavallo

Campione	Sostanza grassa %	Colesterolo Ossidato %	COPs Totali µg/g di lipidi	Triolo µg/g di lipidi
T_0 confezione trasparente	3,1	3,1 ± 0,6	233	ND
T_8 confezione trasparente	2,5	2,5 ± 0,5	317	2,8
T_0 confezione rossa	3,2	3,2 ± 0,4	173	ND
T_8 confezione rossa	2,7	2,7 ± 0,6	139	2,4

V. CARDENIA. M.T. RODRIGUEZ-ESTRADA, F. CUMELLA, L. SARDI, G. DELLA CASA, G. LERCKER, Oxidative stability of pork meat lipids as related to high-oleic sunflower oil and vitamin E supplementation and storage conditions., Meat Sci., 88 271-279 (2011)

Quantità problematica di COPs (con esposizione alla luce)

Al massimo: **0,15 mg/per persona al giorno**

(**Kroes et al., 2004)**

- Carne di cavallo: COPs totali = 3,8 – 7,8 mg/ kg di muscolo
- Carne di manzo: COPs totali = 0,1 – 0,33 mg/ kg di muscolo
- Carne di suino: COPs totali = 0,5 – 1,1 mg/ kg di muscolo
- Carne di tacchino: COPs totali = 0,03 – 10 mg/ kg di muscolo

- Filetti di sardine: COPs totali = 0,7 – 2,3 mg/ kg di muscolo
- Uova in polvere: COPs totali = **2,9 – 59,9** mg/ kg di prodotto
- Biscotti all'uovo: COPs totali = 0,4 – 1,8 mg/ kg di prodotto
- Biscotti al burro: COPs totali = 0,3 – 27,0 mg/ kg di prodotto
- Pasta all'uovo: COPs totali = **52 – 201** mg/ kg di **lipidi**
- = **1,3 – 5,0** mg/ kg di prodotto

V. CARDENIA, M.T. RODRIGUEZ-ESTRADA, E. BOSELLI, G. LERCKER, Cholesterol photosensitized oxidation in food and biological systems., Biochimie, 95, 473-481 (2013)

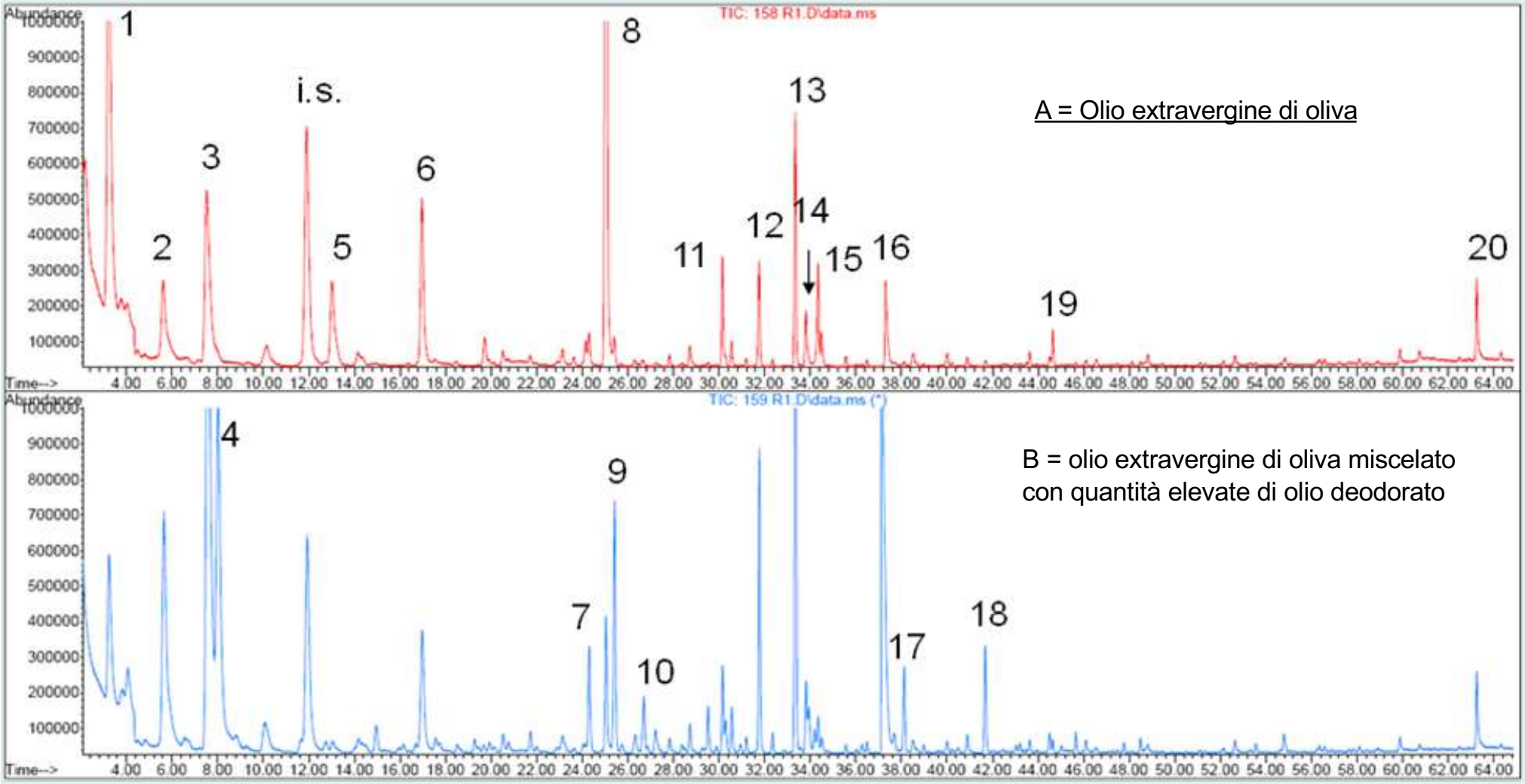
Modificazioni dell'olio extravergine di oliva nella fase di conservazione

Riequilibrio dei componenti

– Equilibrio RED-OX (alcoli-aldeidi-acidi; pigmenti; ossigeno)

Idrolisi (acidificazione)

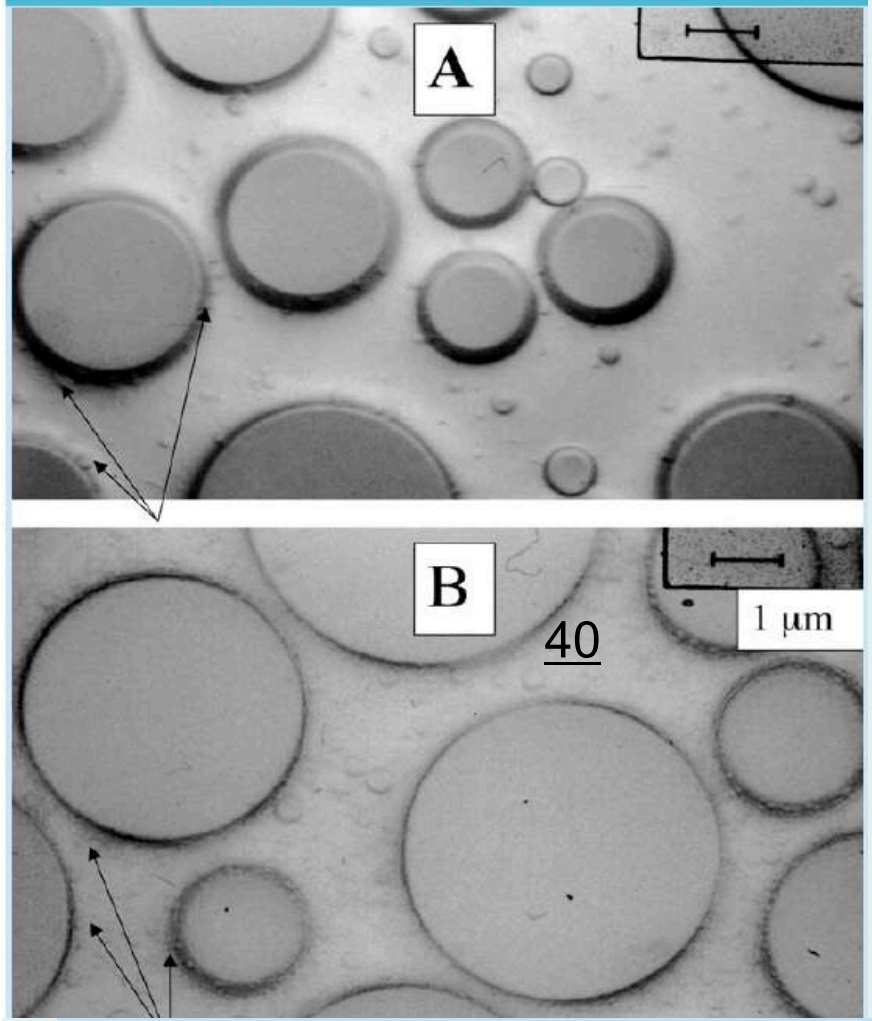
Componenti volatili degli oli da olive



1 = ottano; 2 = etilacetato; 3 = etanolo; i.s. = metilisobutilchetone; 4 = metossi-esano; 5 = 1-penten-3-one; 6 = esanale; 7 = pentanolo; 8 = (*E*)-2-esenale; 9 = dodecene; 10 = pinene; 11 = (*Z*)-3-esenilacetato; 12 = esanolo; 13 = (*Z*)-3-esenolo; 14 = nonanale; 15 = (*E*)-2-esenolo; 16 = acido acetico; 17 = copaene; 18 = dimetilsulfossido; 19 = (*E*)-2-decenale; 20 = acido nonanoico.

A. BENDINI et al., risultati non pubblicati.

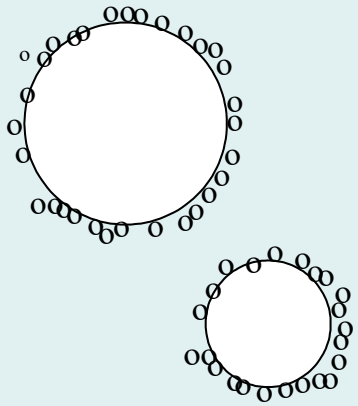
Figura 1 - Microfotografia di oli d'oliva durante il loro decongelamento: olio deodorato (A) e olio extravergine di oliva (B). Sono indicate alcune piccole gocce d'acqua, nei pressi del contorno di grosse gocce di olio.



L'acqua nell'olio da olive

La presenza di 1000-2000 ppm di acqua negli oli vergini filtrati è possibile solo in fase dispersa, stabilizzata dai componenti minori presenti nell'acqua, quali polifenoli, digliceridi, acidi liberi, sali, zuccheri, ecc.

Lercker et al., 2006

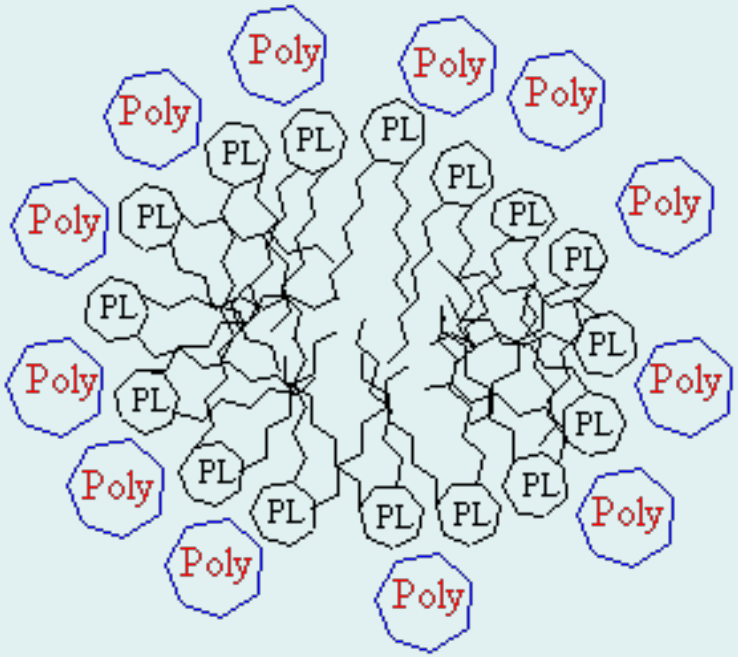


Cerretani et al., 2006

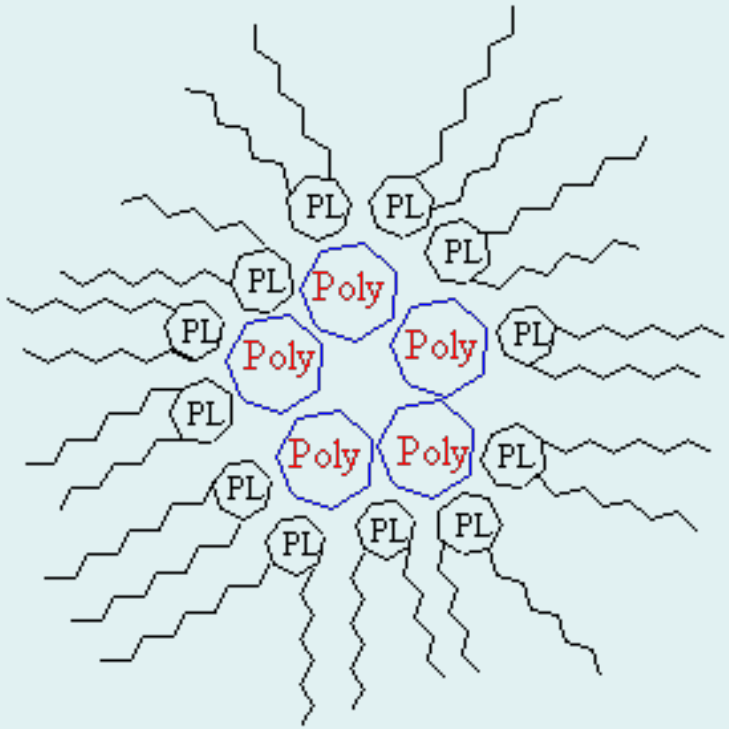
Contenuto in acqua in oli prodotti dalle olive, diversi per tipologia ed origine (mg di acqua/kg, ppm)

	N° di campioni analizzati	*Media*	*Minimo*	*Massimo*
EVOO Italia	184	1238	500	3013
EVOO Spagna	31	912	432	1629
Olio di Oliva	5	417	279	647

Comportamento previsto per sostanze polari in mezzi polari e non polari



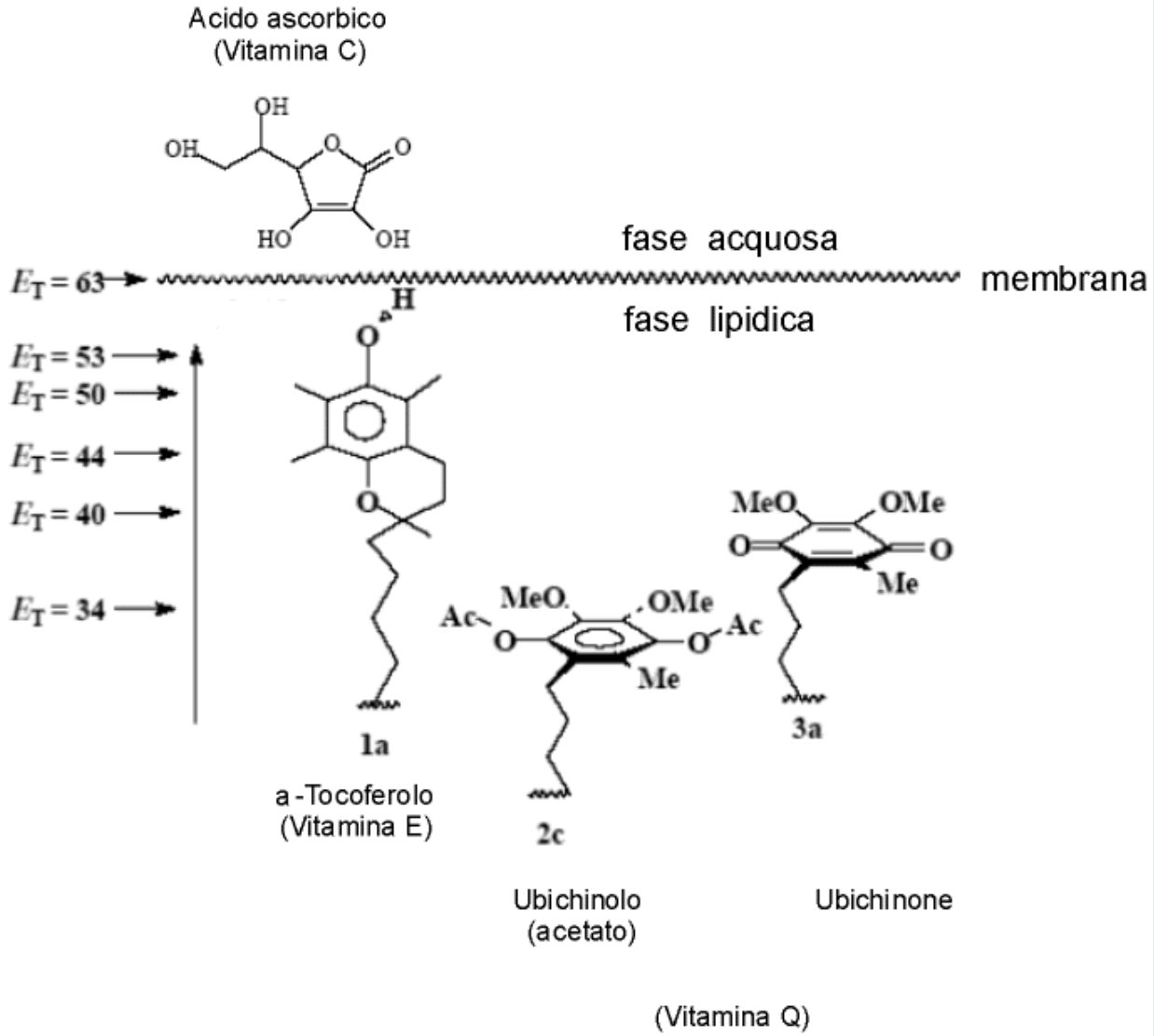
IN AMBIENTE POLARE



IN AMBIENTE NON POLARE

Con PL si intendono: digliceridi e fosfolipidi
Con Poly si intendono i polifenoli, acqua e tutte le sostanze relativamente polari

Posizione dei tre antiossidanti rispetto alla membrana



MONOSTRATO FOSFOLIPIDICO

+

SOD

Catalasi

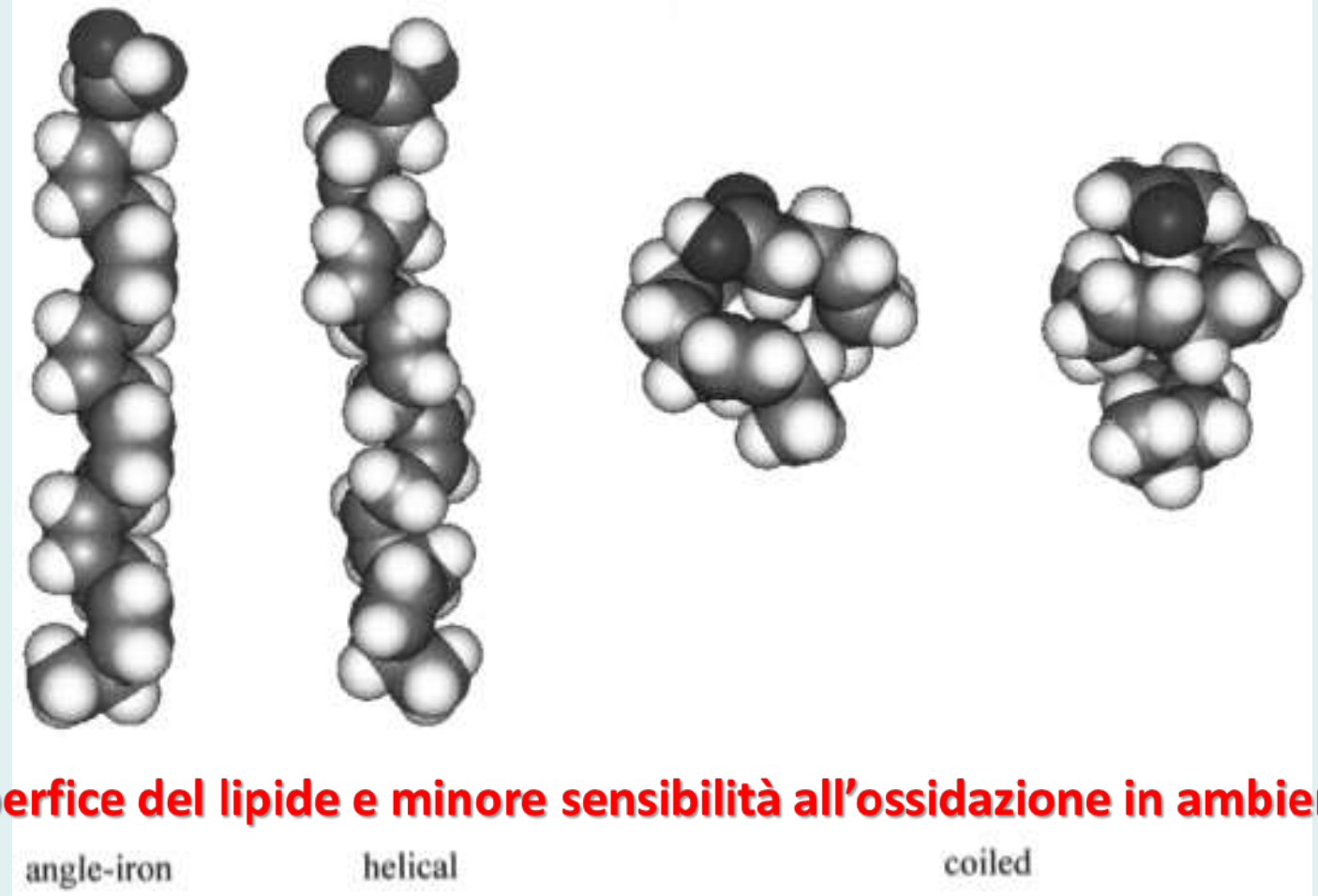
Glutatione reduttasi

GlutationeS-transferasi

Glutatione perossidasi

Afri,&al_ Active oxygen chemistry within the liposomal bilayer Part III: Locating Vitamin E, ubiquinol and ubiquinone and their derivatives in the lipid bilayer., Chemistry and Physics of Lipids 131 (2004) 107–121

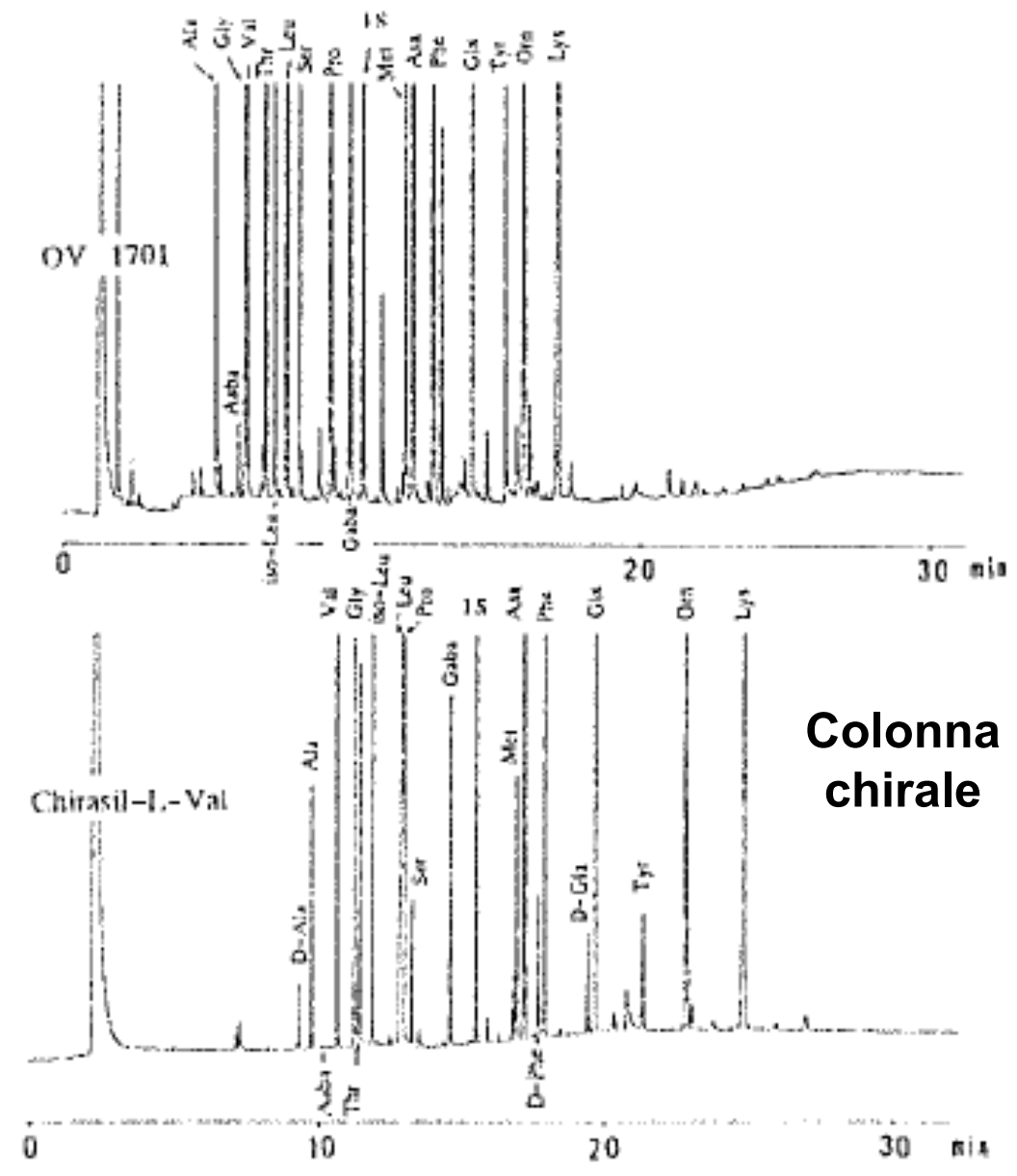
Comportamento delle catene idrocarburiche in mezzi lipidici e acquosi

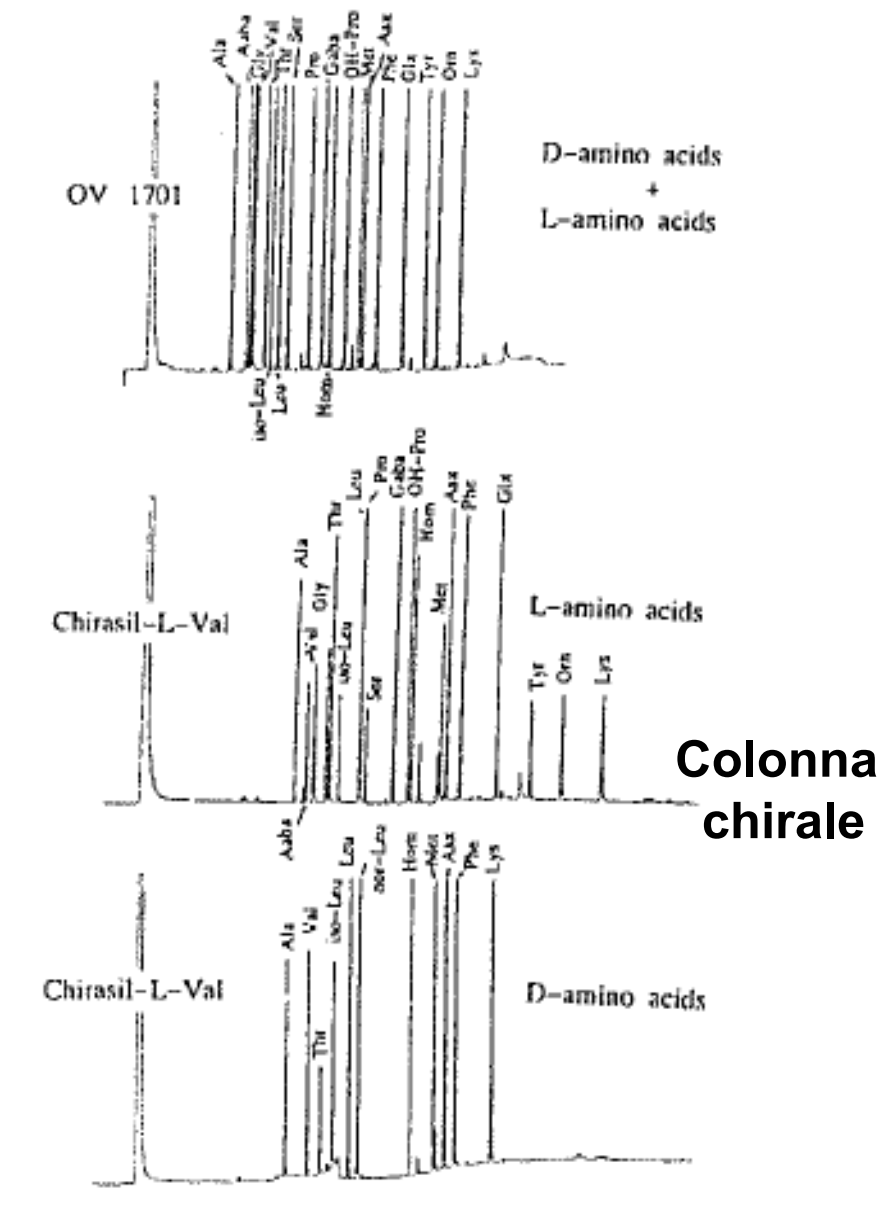


Minore superfice del lipide e minore sensibilità all'ossidazione in ambiente acquoso

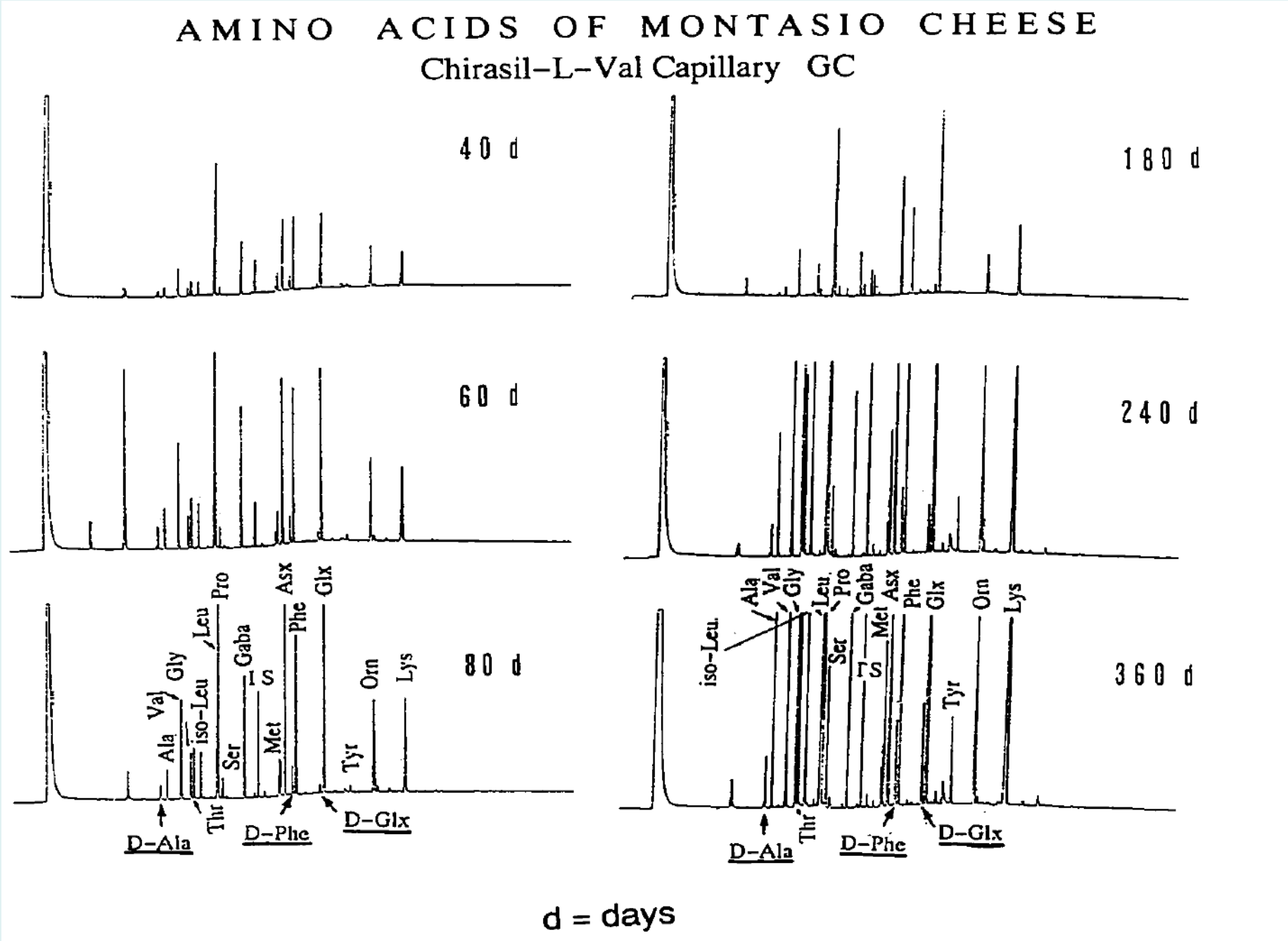
Ambiente lipidico **Ambiente acquoso**

Composizione degli ammino acidi mediante GC in colonne capillari

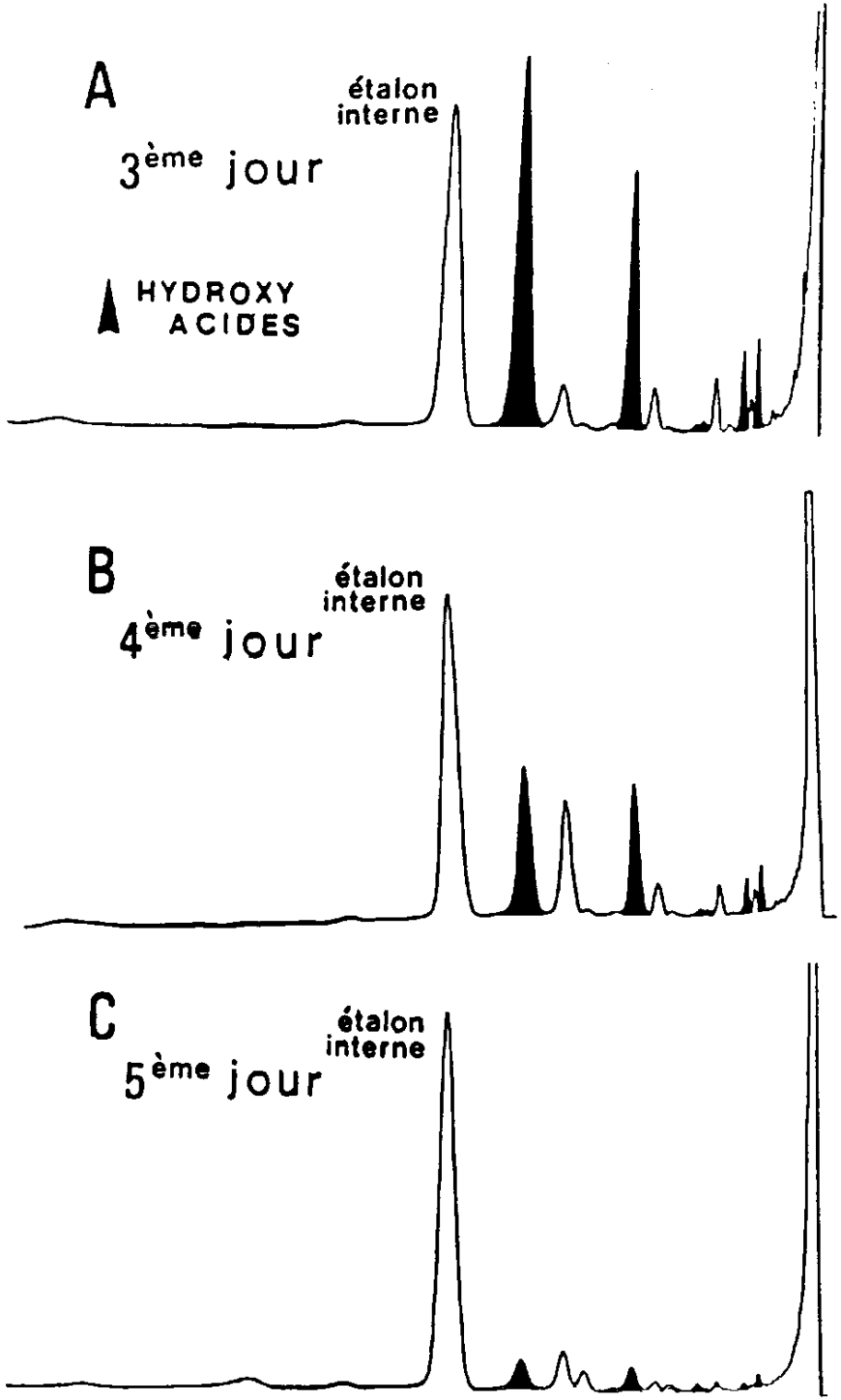




G. BERTACCO, O. BOSCHELLE, G. LERCKER, Gas chromatographic determination of free amino acids in cheeses., Milchwissenschaft, 47(6), 348-350 (1992).



G. BERTACCO, O. BOSCHELLE, G. LERCKER, Gas chromatographic determination of free amino acids in cheeses., Milchwissenschaft, 47(6), 348-350 (1992).

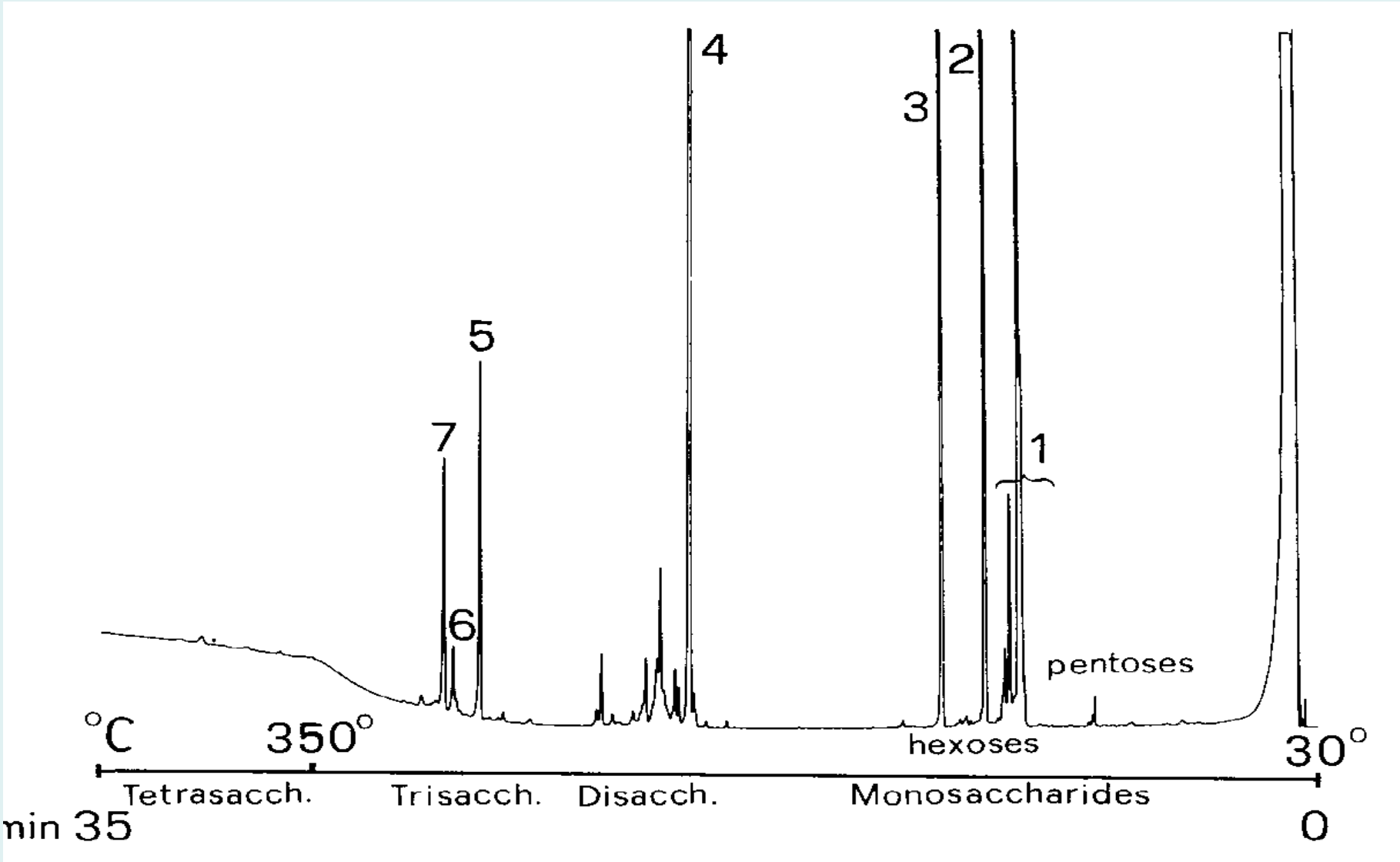


Acidi organici della gelatina reale a diversi stadi dell'età larvale

In nero i picchi degli idrossiacidi

G. LERCKER, M.A. VECCHI, L. PIANA, A. NANETTI, A.G. SABATINI, Composition de la fraction lipidique de la gelé e de larves d'abeilles reines et ouvrières (*Apis mellifera ligustica Spinola*) en fonction de l'age des larves., Apidologie , 15(3), 303-314 (1984).

Oligosaccaridi della gelatina reale



G. LERCKER, S. SAVIOLI, M.A. VECCHI, A.G. SABATINI, A. NANETTI, L. PIANA, Carbohydrate determination of royal jelly by high resolution gascromatography (HRGC)., Food Chem., 19, 255-264 (1986).

63

Ammine biogeniche
(O BIOGENE)

Sono generate a partire da amminoacidi per decarbossilazione

Caratteristiche di formaggi a lunga maturazione o di quelli a media maturazione ad elevato coefficiente di maturazione

Hanno una forte interazione con la pressione sanguigna (''ammine pressorie'')

Principali risultati di rilievo

- Composizione gas cromatografica dei lipidi totali
- Presenza di triacilgliceroli (TG) nelle membrane di ratti obesi (per iperfagia)
- Lipidi di membrana e composizione degli acidi grassi
- Lipidi dell'epicarpo dell'oliva
- Composizione della frazione lipidica e glucidica della gelatina reale in funzione dell'età larvale
- Separazione e determinazione degli acidi grassi *trans* isomeri
- Messa a punto di metodi di analisi per la rivelazione di frodi alimentari
- Meccanismi di ossidazione dei sistemi modello
- Prodotti di ossidazione del colesterolo (COPs) e dei fitosteroli (POPs)

CONCLUSIONI

- La ricerca si sposta a livello molecolare, per essere innovativa
- La chimica e gli alimenti
  - Composizione
  - Modificazioni della composizione
  - Controllo delle produzioni
  - Analisi della qualità
- Ricerca nel settore degli alimenti
- Collaborazioni fra settori scientifici differenti (trasversali)
- Capacità investigativa della chimica analitica strumentale e delle cromatografie

VI RINGRAZIO PER L'ATTENZIONE