

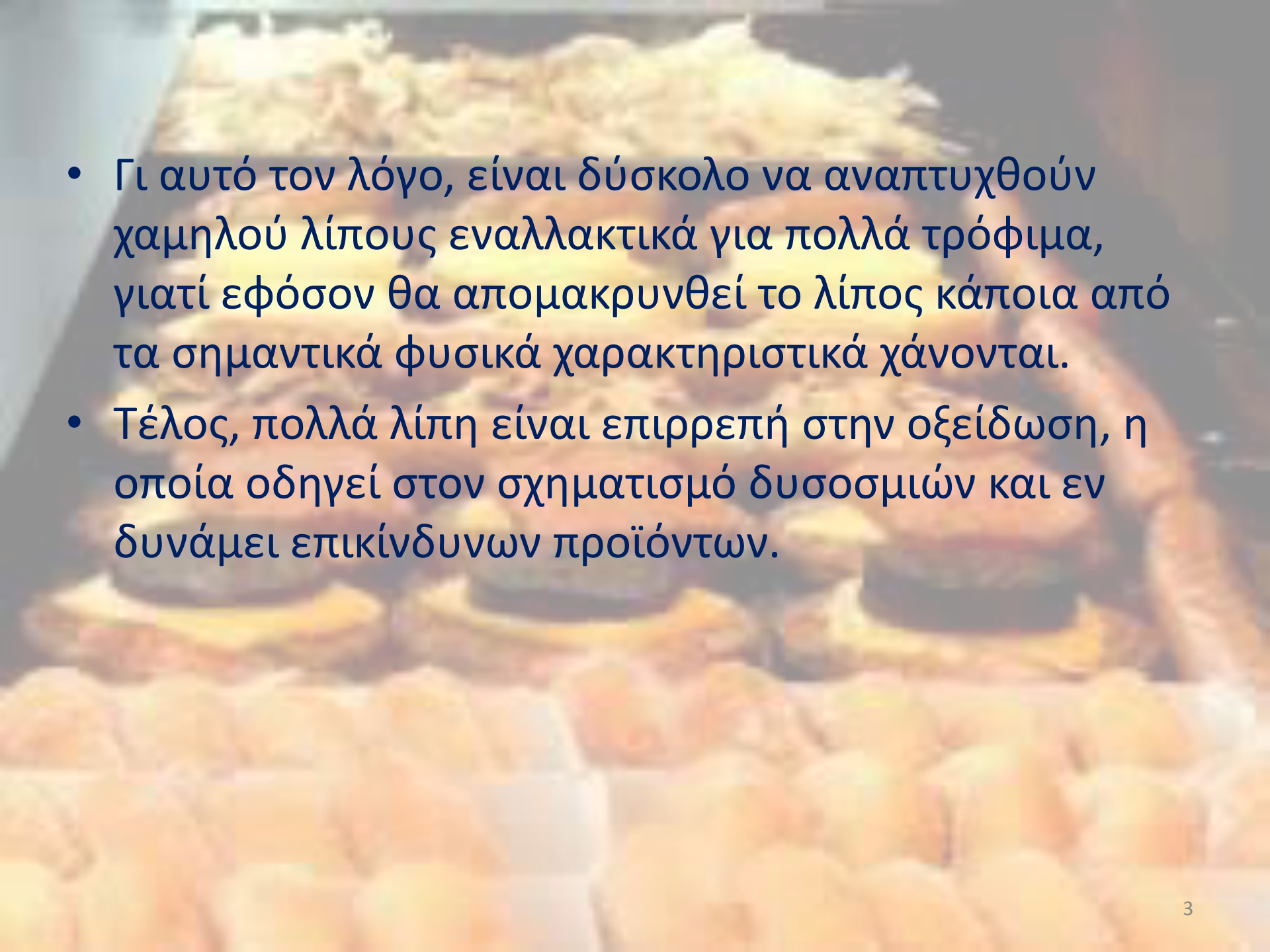


# ΛΙΠΟΣ - ΛΙΠΑΡΑ

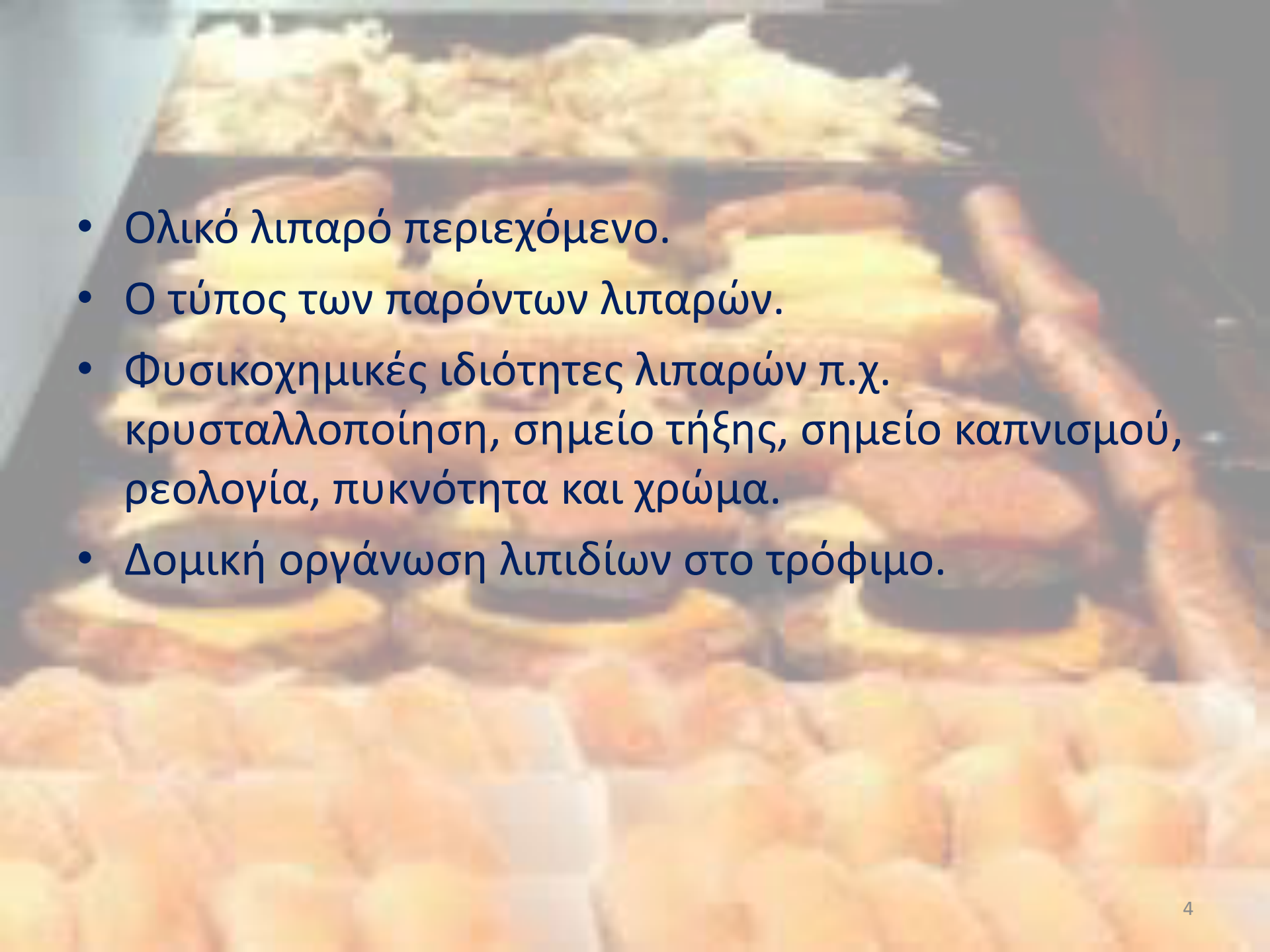
Αναστασία Μπαδέκα  
Αναπλ. Καθηγήτρια  
Τμήμα Χημείας  
Παν/μιο Ιωαννίνων

# Εισαγωγή

- Τα λιπαρά είναι ένα από τα πρωτεύοντα συστατικά των τροφίμων και είναι σημαντικά της διατροφής για διάφορους λόγους.
- Είναι η κύρια πηγή ενέργειας και παρέχουν σημαντικά λιπαρά θρεπτικά.
- Παρόλα αυτά, η υπερκατανάλωση συγκεκριμένων λιπαρών μπορεί να είναι επιβλαβής για την υγεία μας, π.χ. χοληστερόλη και κορεσμένα λιπαρά.
- Σε πολλά τρόφιμα το λιπαρό περιεχόμενο παίζει σημαντικό ρόλο στον προσδιορισμό των φυσικών χαρακτηριστικών, όπως το άρωμα, υφή, αίσθηση στο στόμα και εμφάνιση.

- 
- Γι αυτό τον λόγο, είναι δύσκολο να αναπτυχθούν χαμηλού λίπους εναλλακτικά για πολλά τρόφιμα, γιατί εφόσον θα απομακρυνθεί το λίπος κάποια από τα σημαντικά φυσικά χαρακτηριστικά χάνονται.
  - Τέλος, πολλά λίπη είναι επιρρεπή στην οξείδωση, η οποία οδηγεί στον σχηματισμό δυσοσμίων και ενδυνάμει επικίνδυνων προϊόντων.



- 
- Ολικό λιπαρό περιεχόμενο.
  - Ο τύπος των παρόντων λιπαρών.
  - Φυσικοχημικές ιδιότητες λιπαρών π.χ. κρυσταλλοποίηση, σημείο τήξης, σημείο καπνισμού, ρεολογία, πυκνότητα και χρώμα.
  - Δομική οργάνωση λιπιδίων στο τρόφιμο.

- Τα λιπαρά συνήθως ορίζονται ως τα συστατικά που είναι διαλυτά σε οργανικούς διαλύτες (αιθέρα, εξάνιο, χλωροφόρμιο) και αδιάλυτα στο νερό.
- Περιλαμβάνουν τριγλυκερίδια, διγλυκερίδια, μονογλυκερίδια, ελεύθερα λιπαρά οξέα, φωσφολιπίδια, στερόλες, καροτενοειδή και βιταμίνες A και D.
- Το λιπαρό κλάσμα ενός λιπαρού τροφίμου περιέχει ένα περίπλοκο μίγμα διαφορετικών τύπων μορίου.
- Μερικές φορές ο όρος **λίπος** χρησιμοποιείται για να περιγράψει τα λιπαρά που είναι στερεά σε συγκεκριμένη θερμοκρασία, ενώ ο όρος **λάδι (έλαιο)** χρησιμοποιείται για την περιγραφή εκείνων που είναι υγρά.

# Προσδιορισμός συνολικού περιεχόμενο λίπους

- Οικονομικοί
- Νομικοί (συμμόρφωση με τα πρότυπα της νομοθεσίας για την ταυτοποίηση και τη διατροφή σήμανση)
- Υγείας (ανάπτυξη τροφίμων με χαμηλά λιπαρά)
- Ποιοτικοί (οι ιδιότητες των τροφίμων εξαρτώνται από το περιεχόμενο λίπος)
- Επεξεργασίας (οι συνθήκες επεξεργασίας εξαρτώνται από το λίπος)



- Τα βασικά φυσικοχημικά χαρακτηριστικά των λιπαρών (ο αναλυτής) χρησιμοποιούνται για να διαχωριστούν από άλλα συστατικά των τροφίμων (η μήτρα) και είναι η διαλυτότητά τους σε οργανικούς διαλύτες, η μη διαλυτότητά τους στο νερό, φυσικά χαρακτηριστικά (π.χ. σχετικά χαμηλή πυκνότητα) και φασματοσκοπικές ιδιότητες.
- Οι αναλυτικές τεχνικές βασίζονται σε αυτές τις αρχές μπορούν να κατηγοριοποιηθούν σε τρεις κατηγορίες: (i) εκχύλιση με διαλύτες, (ii) εκχύλιση χωρίς διαλύτες και (iii) ενόργανες μέθοδοι.

# Εκχύλιση με διαλύτες

- Η διαλυτότητα των λιπαρών σε οργανικούς διαλύτες παρέχει στον αναλυτή τροφίμων μία εύχρηστη μέθοδο διαχωρισμού των λιπαρών συστατικών από τα υδατικά συστατικά (π.χ. πρωτεΐνες, υδατάνθρακες και μέταλλα).
- Είναι η πιο κοινή μέθοδος για την απομόνωση των λιπαρών τροφίμων και προσδιορισμό του ολικού λιπαρού περιεχόμενου των τροφίμων.



# Προετοιμασία δείγματος

- **Ξήρανση δείγματος.** Συνήθως είναι απαραίτητο να ξηρανθούν τα δείγματα πριν την εκχύλιση με διαλύτη, γιατί πολλοί οργανικοί διαλύτες δεν μπορούν εύκολα να διεισδύσουν εύκολα στα τρόφιμα που περιέχουν νερό και έτσι η εκχύλιση δεν είναι αποδοτική.
- **Ελάττωση του μεγέθους.** Τα ξηρά δείγματα συνήθως αλέθονται πριν την εκχύλιση για να είναι ένα πιο ομοιογενές δείγμα και να αυξηθεί η επιφάνεια των λιπαρών που εκτίθενται στο διαλύτη. Η άλεση συνήθως γίνεται σε χαμηλές θερμοκρασίες για να ελαττωθεί η τάση για οξειδωση.

- **Όξινη υδρόλυση.** Κάποια τρόφιμα περιέχουν λιπαρά τα οποία είναι συνδεδεμένα με πρωτεΐνες (λιποπρωτεΐνες) ή πολυσακχαρίτες (γλυκολιπίδια). Για τον προσδιορισμό αυτών των συστατικών είναι απαραίτητο να σπάσουν αυτοί οι δεσμοί που συγκρατούν τα λιπαρά με τα μη λιπαρά συστατικά πριν την εκχύλιση. Η όξινη υδρόλυση συνήθως χρησιμοποιείται για την απελευθέρωση αυτών των λιπαρών π.χ. το δείγμα υπόκειται σε πέψη με θέρμανση 1 ώρα με 3N HCl.

- **Επιλογή διαλύτη.** Ο ιδανικός διαλύτης για την εκχύλιση των λιπαρών είναι αυτός που εκχυλίζει πλήρως τα λιπαρά συστατικά από το τρόφιμο, ενώ αφήνει τα άλλα συστατικά πίσω. Τα **πολικά λιπαρά** (γλυκολιπίδια ή φωσφολιπίδια) είναι πιο διαλυτά σε πολικούς διαλύτες (π.χ. αλκοόλες) από ότι σε μη πολικούς (π.χ. εξάνιο). Το αντίθετο με τα **μη πολικά λιπαρά**.

Επομένως απαιτούνται διάφοροι διαλύτες με διαφορετικές πολικότητες έτσι ώστε να απομακρυνθούν όλα τα λιπαρά.

Εάν χρησιμοποιηθεί ένας διαλύτης το ολικό περιεχόμενο λίπους πιθανόν να διαφέρει εάν χρησιμοποιηθεί άλλος διαλύτης.



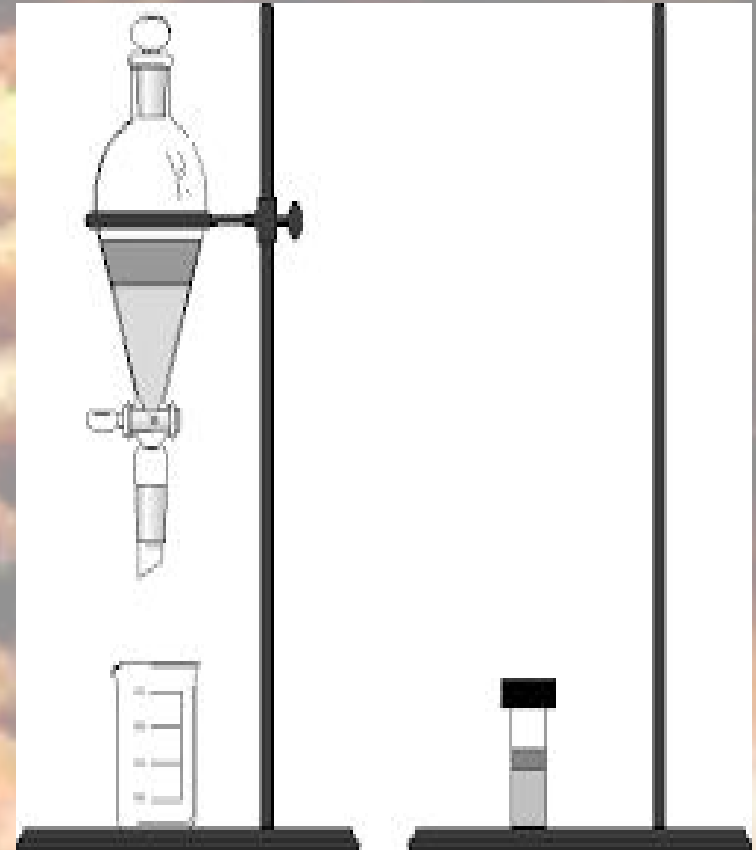
- Επιπλέον με τα παραπάνω, ο διαλύτης θα πρέπει να είναι φτηνός, να έχει χαμηλό σχετικά σημείο ζέσης (για να μπορέσει εύκολα να απομακρυνθεί με εξάτμιση), μη τοξικός και μη εύφλεκτος (για λόγους ασφαλείας).
- Είναι δύσκολο να βρεθεί ένας διαλύτης που να πληροί όλες αυτές τις απαιτήσεις.
- Αιθυλαιθέρας και πετρελαϊκός αιθέρας είναι οι πιο κοινά χρησιμοποιούμενοι διαλύτες, αλλά το πεντάνιο και το εξάνιο επίσης χρησιμοποιούνται για κάποια τρόφιμα.

# Εκχύλιση υγρού-υγρού

- Αυτές οι μέθοδοι βασίζονται στην ανάμιξη του δείγματος και του διαλύτη σε κατάλληλο περιέκτη π.χ. διαχωριστική χοάνη.
- Ο περιέκτης ανακινείται έντονα και ο οργανικός διαλύτης διαχωρίζεται από την υδατική φάση.
- Στη συνέχεια η υδατική φάση αποχύνεται και η συγκέντρωση του λίπους στο διαλύτη προσδιορίζεται με εξάτμιση του διαλύτη και μετρείται η μάζα του υπολείμματος:

$$\% \text{λίπος} = (M_{\text{λίπους}} / M_{\text{δείγματος}}) \times 100.$$

- Αυτή η πορεία πιθανόν να πρέπει να επαναληφθεί αρκετές φορές για να βελτιωθεί η αποτελεσματικότητα της πορείας εκχύλισης.
- Σε αυτή την περίπτωση η υδατική φάση θα πρέπει να εκχυλιστεί περαιτέρω με «φρέσκο» διαλύτη, και όλα τα κλάσματα του διαλύτη συλλέγονται όλα μαζί και το λίπος προσδιορίζεται με ζύγιση μετά την εξάτμιση του διαλύτη.





- Η αποτελεσματικότητα της εκχύλισης ενός συγκεκριμένου τύπου λίπους από ένα συγκεκριμένο διαλύτη μπορεί να προσοτικοποιηθεί με τον συντελεστή κατανομής,

$$K = c_{\text{διαλύτη}} / c_{\text{υδατικής φάσης}}$$

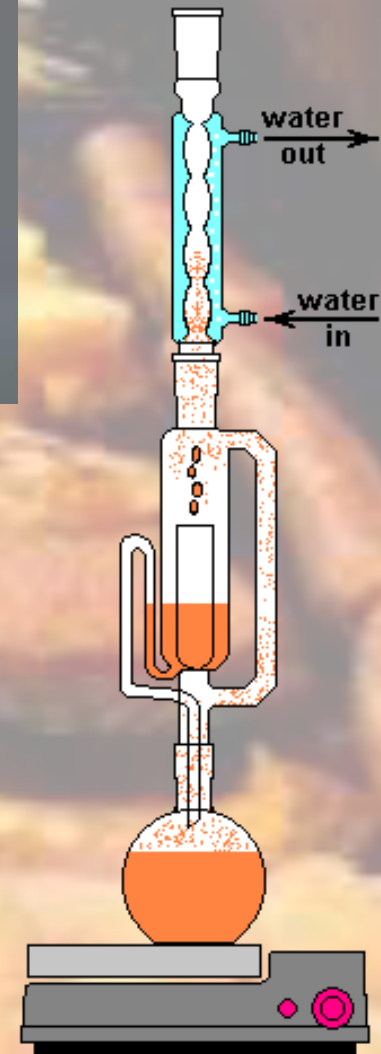
$c_{\text{διαλύτη}}$  &  $c_{\text{υδατικής φάσης}}$  είναι η συγκέντρωση του λιπιδίου στη φάση του διαλύτη και στην υδατική φάση, αντίστοιχα.

Υψηλός συντελεστής κατανομής, τόσο πιο ικανοποιητική η πορεία εκχύλισης.

# Ημισυνεχής Εκχύλιση διαλύτη

- Οι μέθοδοι ημισυνεχούς εκχύλισης συνήθως χρησιμοποιούνται για να αυξηθεί η αποδοτικότητα της εκχύλισης λιπαρών από τα τρόφιμα. Η μέθοδος Soxhlet είναι η ευρέως χρησιμοποιούμενη μέθοδος ημισυνεχούς εκχύλισης.

- Το δείγμα ξηραίνεται, αλέθεται σε μικρά σωματίδια και τοποθετείται σε πορώδες φυσίγγιο. Το φυσίγγιο τοποθετείται στο θάλαμο εκχύλισης, ο οποίος τοποθετείται πάνω από φιάλη που υπάρχει ο διαλύτης και στη συνέχεια ο ψυκτήρας. Η φιάλη θερμαίνεται, ο διαλύτης εξατμίζεται, υγροποιείται στον ψυκτήρα και το υγρό στάζει στο θάλαμο εκχύλισης. Τελικά, ο διαλύτης γεμίζει το θάλαμο εκχύλισης που περιέχει το δείγμα και καλύπτει το δείγμα. Ο θάλαμος εκχύλισης είναι έτσι σχεδιασμένος έτσι ώστε ο διαλύτης όταν φτάσει σε ένα επίπεδο υπερχειλίζει και επιστρέφει στη φιάλη. Καθώς περνά από το δείγμα ο διαλύτης εκχυλίζει τα λιπαρά (λίπος) και το μεταφέρει στη φιάλη. Τα λιπαρά παραμένουν στη φιάλη λόγω της χαμηλής πτητικότητά τους.



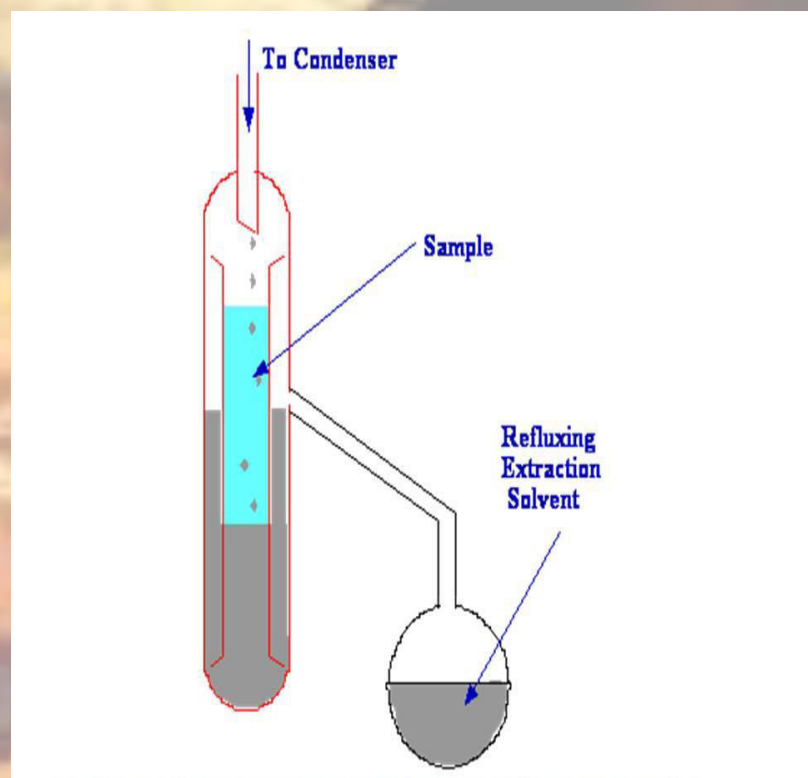
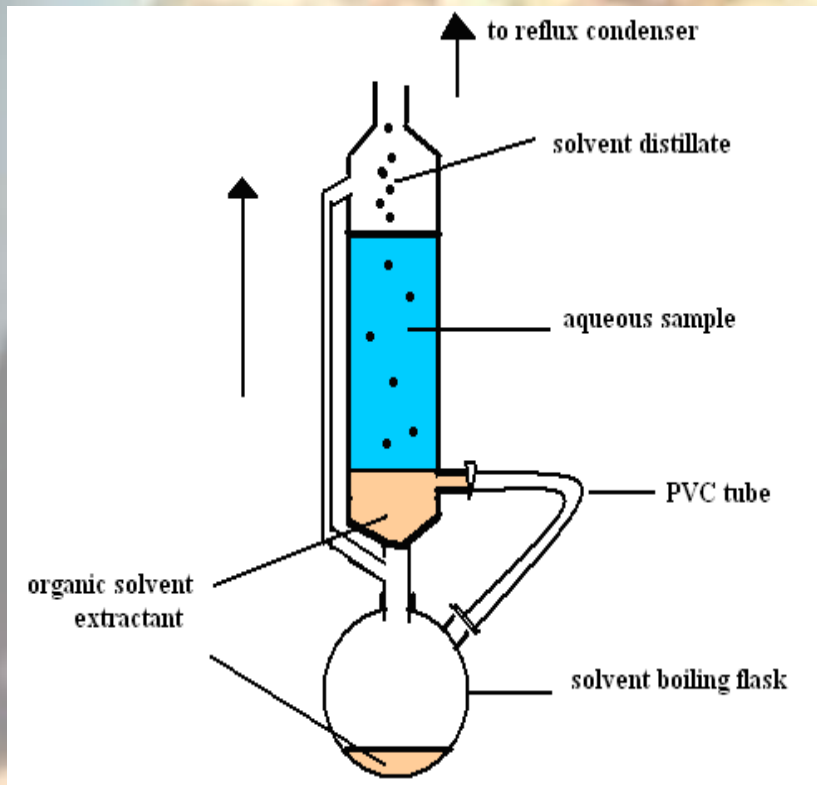


- Έχουν σχεδιαστεί διάφορες συσκευές αυτού του τύπου που πραγματοποιούν την εκχύλιση πιο γρήγορα και πιο εύκολα (π.χ. Soxtec).



# Εκχύλιση συνεχούς φάσης

- Η μέθοδος Goldfish είναι παρόμοια με τη μέθοδο Soxhlet εκτός από το γεγονός ότι ο θάλαμος εκχύλισης είναι σχεδιασμένος έτσι ώστε ο διαλύτης ρέει μέσω του δείγματος σε αντίθεση με τη συλλογή του γύρω του.
- Έτσι μειώνεται ο χρόνος που απαιτείται για την ολοκλήρωση της εκχύλισης.
- Όμως το μειονέκτημά της είναι η διοχέτευση του διαλύτη δηλ. ο διαλύτης μπορεί να επιλέξει να ακολουθήσει συγκεκριμένες πορείες μέσω του δείγματος και έτσι να μην είναι ικανοποιητική η εκχύλιση. Αυτό δεν παρατηρείται στη μέθοδο Soxhlet γιατί το δείγμα πάντα περιβάλλεται από το διαλύτη.





# Επιταχυνόμενη μέθοδος εκχύλισης

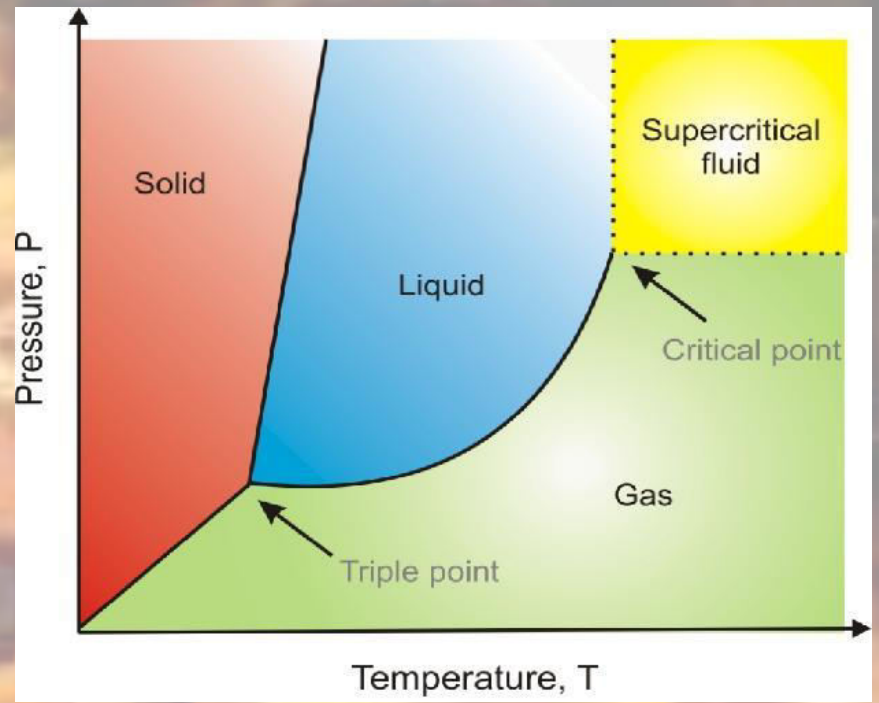
- Η απόδοση της εκχύλισης με διαλύτη μπορεί να αυξηθεί με χρήση υψηλότερης θερμοκρασίας και πίεσης από ότι συνήθως χρησιμοποιείται.
- Η αποδοτικότητα ενός διαλύτη για την εκχύλιση λιπαρών από ένα τρόφιμο αυξάνεται καθώς αυξάνεται η θερμοκρασία, αλλά θα πρέπει να αυξηθεί και η πίεση έτσι ώστε να διατηρεί τον διαλύτη σε υγρή φάση. Έτσι ελαττώνεται το ποσό του διαλύτη που απαιτείται για την ανάλυση και έτσι είναι επωφελής και από πλευράς κόστους και περιβάλλοντος.



# Εκχύλιση υπερκρίσιμου υγρού

- Η εκχύλιση με διαλύτη μπορεί να γίνει με χρήση ειδικών οργάνων που χρησιμοποιούν υπερκρίσιμο  $\text{CO}_2$  (αντί για οργανικούς διαλύτες) ως διαλύτη.
- Όταν το συμπιεσμένο  $\text{CO}_2$  θερμαίνεται πάνω από μία κρίσιμη θερμοκρασία γίνεται υπερκρίσιμο υγρό το οποίο έχει συγκεκριμένες ιδιότητες αερίου και κάποιες του υγρού. Το γεγονός ότι συμπεριφέρεται ως αέριο σημαίνει ότι εύκολα μπορεί να διεισδύσει στο δείγμα και εκχυλίζει τα λιπαρά, ενώ το γεγονός ότι συμπεριφέρεται ως υγρό σημαίνει ότι μπορεί να διαλύσει μεγάλη ποσότητα λιπαρών (ιδιαίτερα σε υψηλές πιέσεις).





- Τα όργανα που βασίζονται σε αυτή την αρχή θερμαίνουν το δείγμα τροφίμου που πρόκειται να αναλυθεί σε θάλαμο συμπίεσης και στη συνέχεια αναμιγνύεται με υπερκρίσιμο υγρό CO<sub>2</sub>.
- Το CO<sub>2</sub> εκχυλίζει το λίπος και σχηματίζει μία χωριστή στοιβάδα λίπους η οποία διαχωρίζεται από τα υδατικά συστατικά.
- Η πίεση και η θερμοκρασία του διαλύτη στη συνέχεια ελαττώνεται με αποτέλεσμα να μετατρέπεται το CO<sub>2</sub> σε αέριο και έτσι εγκαταλείπει το λιπαρό κλάσμα.
- Το περιεχόμενο λίπος ενός τροφίμου προσδιορίζεται με ζύγιση του εκχυλισμένου λίπους από το αρχικό δείγμα.

# Μέθοδοι εκχύλισης χωρίς διαλύτες

- Χρησιμοποιούν άλλα χημικά για τον διαχωρισμό του λίπους και όχι διαλύτες.
- Μέθοδοι Babcock, Gerber και επιφανειοδραστικών αντιδραστηρίων για την εκχύλιση του λιπαρού περιεχομένου του γάλακτος και άλλων γαλακτοκομικών προϊόντων.



# Babcock Method

- Γάλα μεταφέρεται με ακρίβεια σε ειδικά σχεδιασμένη φιάλη. Το γάλα αναμιγνύεται με θειικό οξύ, το οποίο «χωνεύει» τις πρωτεΐνες, παράγει θερμότητα και διασπά τη μεμβράνη των λιποσφαιριδίων και ελευθερώνει το λίπος. Στη συνέχεια φυγοκεντρείται ενώ είναι ζεστό (55-60°C) και έτσι το λίπος ανεβαίνει στο λαιμό της φιάλης Babcock. Ο λαιμός είναι βαθμολογημένος και δίνει απευθείας το ποσοστό % του λίπους του γάλακτος.
- Χρειάζεται περίπου 45 λεπτά και η ακρίβειά τους είναι 0,1%. Δεν προσδιορίζονται τα φωσφολιπίδια στο γάλα, γιατί βρίσκονται στην υδατική φάση ή στο όριο μεταξύ λιπιδίων και υδατικής φάσης.



# Gerber Method

- Είναι παρόμοια με τη μέθοδο Babcock εκτός του ότι χρησιμοποιείται μίγμα θειικού οξέος και ισοαμυλικής αλκοόλης και είναι λίγο διαφορετικό το σχήμα της φιάλης. Είναι πιο γρήγορη και πιο απλή.
- Η ισοαμυλική αλκοόλη χρησιμοποιείται για να αποφευχθεί η καύση των σακχάρων (από την θερμότητα λόγω της προσθήκης του θειικού οξέος) και έτσι θα ήταν δύσκολο να διαβαστεί το περιεχόμενο λίπους στη βαθμολογημένη φιάλη.
- Αυτή η μέθοδος χρησιμοποιείται κυρίως στην Ευρώπη, ενώ η μέθοδος Babcock κυρίως στην Αμερική.
- Επίσης όπως η μέθοδος Babcock δεν προσδιορίζει φωσφολιπίδια.





# Μέθοδος «επιφανειοδραστικών»

- Αυτή η μέθοδος αναπτύχθηκε για να ξεπεραστούν τα θέματα δυσκολίας και ασφάλειας που σχετίζονται με τη χρήση ισχυρών διαβρωτικών οξέων.
- Ένα δείγμα αναμιγνύεται με έναν συνδυασμό επιφανειοδραστικών ουσιών σε μία φιάλη Babcock.
- Τα επιφανειοδραστικά μετατοπίζουν τη μεμβράνη που περιβάλλει τα σταγονίδια του γαλακτώματος στο γάλα και προκαλούν τη συγχώνευση και τον διαχωρισμό τους. Το δείγμα φυγοκεντρείται και έτσι το λίπος μετατοπίζεται στο λαιμό της φιάλης και προσδιορίζεται η συγκέντρωσή του.



# Ενόργανες μέθοδοι

- Υπάρχει μεγάλη ποικιλία διαφορετικών ενόργανων μεθόδων για τον προσδιορισμό του ολικού λίπους των τροφίμων.
- Αυτές οι μέθοδοι διαιρούνται σε 3 κατηγορίες σύμφωνα με τις φυσικοχημικές αρχές:
  - (1) μέτρηση των φυσικών ιδιοτήτων,
  - (2) μέτρηση απορρόφησης ακτινοβολίας,
  - (3) μέτρηση σκεδασμού (διασπορά) ακτινοβολίας.

## Φυσικές ιδιότητες

- **Πυκνότητα:** Η πυκνότητα ενός υγρού ελαίου είναι μικρότερη από αυτή των άλλων συστατικών και αυτή ελαττώνεται καθώς το περιεχόμενο λίπος σε ένα τρόφιμο αυξάνεται. Έτσι το περιεχόμενο λίπος των τροφίμων μπορεί να προσδιοριστεί με τη μέτρηση της πυκνότητά τους.
- **Ηλεκτρική αγωγιμότητα:** Η ηλεκτρική αγωγιμότητα των λιπαρών είναι πολύ μικρότερη από αυτή των υδατικών συστατικών. Η αγωγιμότητα ενός τροφίμου ελαττώνεται καθώς η συγκέντρωση των λιπαρών αυξάνεται. Επομένως οι μετρήσεις της ολικής ηλεκτρικής αγωγιμότητας των τροφίμων μπορούν να προσδιορίσουν το περιεχόμενο λίπους.

- **Ταχύτητα υπερήχων:** Η ταχύτητα με την οποία ταξιδεύει ένα κύμα υπερήχων μέσα σε ένα υλικό εξαρτάται από τη συγκέντρωση του λίπους σε ένα τρόφιμο. Έτσι η λιποπεριεκτικότητα μπορεί να προσδιοριστεί με μέτρηση της ταχύτητας υπερήχων. Αυτή η τεχνική είναι ικανή για γρήγορη, μη καταστρεπτική on-line μέτρηση της λιποπεριεκτικότητας.



# Μέτρηση της απορρόφησης ακτινοβολίας

- **UV-ορατό:** Η συγκέντρωση συγκεκριμένων λιπιδίων μπορεί να προσδιοριστεί με την απορρόφηση της ακτινοβολίας υπεριώδους-ορατού. Τα λιπαρά θα πρέπει να εκχυλιστούν, να διαλυθούν σε κατάλληλο διαλύτη πριν την ανάλυση. Η τεχνική αυτή μπορεί να είναι χρονοβόρα και απαιτητική.
- **Υπέρυθρη:** Αυτή μέθοδος βασίζεται στην απορρόφηση της IR ακτινοβολίας μήκους κύματος στα  $5,73\mu\text{m}$  ( $1745\text{ cm}^{-1}$ ) λόγω των μοριακών δονήσεων ή περιστροφών που σχετίζονται με το παρόν λίπος: η μεγαλύτερη απορρόφηση  $\rightarrow$  μεγαλύτερη λιποπεριεκτικότητα. Γρήγορη και on-line ανάλυση του λίπους εφόσον μπορεί να κατασκευαστεί κατάλληλη πρότυπη καμπύλη.

- **Πυρηνικός μαγνητικός συντονισμός:** Η NMR φασματοσκοπία χρησιμοποιείται συνήθως για τον προσδιορισμό της ολικής λιποπεριεκτικότητας των τροφίμων. Προσδιορίζεται με τη μέτρηση της περιοχής κάτω από την κορυφή σε ένα φάσμα χημικής μετατόπισης που αντιστοιχεί στο κλάσμα λιπιδίων. Συνήθως προσδιορίζεται σε λίγα δευτερόλεπτα χωρίς την ανάγκη επιπλέον προετοιμασίας του δείγματος και με τη χρήση εμπορικώς διαθέσιμων οργάνων.

- **Απορρόφηση ακτίνων Χ:** Το άπαχο κρέας απορροφά της ακτίνες Χ πιο ισχυρά από ότι το λίπος. Η απορρόφηση ελαττώνεται καθώς η λιποπεριεκτικότητα αυξάνεται. Έχουν αναπτυχθεί όργανα που χρησιμοποιούν αυτό το φαινόμενο για τον προσδιορισμό του λίπους στο κρέας και τα προϊόντα κρέατος.



# Μέτρηση του σκεδασμού ακτινοβολίας

- **Σκέδαση φωτός:** Η συγκέντρωση των σταγονιδίων λαδιού σε γαλακτώματα τροφίμων μπορεί να προσδιοριστεί με τη χρήση των τεχνικών σκεδασμού φωτός επειδή η θολερότητα ενός γαλακτώματος είναι ανάλογη με τη συγκέντρωση των σταγονιδίων λίπους.
- **Σκέδαση υπερήχων:** Η συγκέντρωση των σταγονιδίων λίπους σε γαλακτώματα συμπυκνωμένων τροφίμων μπορεί να προσδιοριστεί με τη χρήση της τεχνικής σκεδασμού υπερήχων επειδή η ταχύτητα υπερήχων και η απορρόφηση υπερήχων από ένα γαλάκτωμα σχετίζεται με τη συγκέντρωση των σταγονιδίων λίπους.

- Αυτές οι τεχνικές έχουν πολλά πλεονεκτήματα σε σχέση με τις τεχνικές εκχύλισης λόγω του ότι δεν είναι καταστρεπτικές, απαιτούν λίγη ή καθόλου προετοιμασία δείγματος και είναι συνήθως γρήγορες, ακριβείς και απλές.
- Το κυριότερο μειονέκτημα αυτών των τεχνικών μέτρησης φυσικών ιδιοτήτων είναι ότι πρέπει να κατασκευαστεί πρότυπη καμπύλη της ιδιότητας που μας ενδιαφέρει και του ολικού λίπους και αυτό εξαρτάται από τον τύπο του υπάρχοντος λιπαρού και της μήτρας του τροφίμου.
- Επιπλέον, αυτές οι τεχνικές μπορούν να αναλύσουν τρόφιμα με σχετικά απλή σύσταση. Σε ένα τρόφιμο που περιέχει διάφορα συστατικά με διαφορετικές περιεκτικότητες είναι δύσκολο να διαχωριστεί η συνεισφορά του λίπους στην ολική μέτρηση από τα άλλα συστατικά.



# Προσδιορισμός της σύστασης λιπαρών

- Οι προηγούμενες αναλυτικές τεχνικές μετρούν το ολικό λιπαρό περιεχόμενο χωρίς οποιαδήποτε αναφορά για τον τύπο των λιπαρών.
- Τα λιπαρά είναι μία πολύπλοκη ομάδα που αποτελείται από τρι-, δι- και μονογλυκερίδια, ελεύθερα λιπαρά οξέα, φωσφολιπίδια, στερόλες, καροτενοειδή και βιταμίνες Α και D.
- Τα λιπαρά οξέα έχουν διαφορετικό μήκος αλυσίδας, διακλαδώσεις, ακορεστότητα, και θέση στο μόριο της γλυκερόλης.



- **Οξείδωση λιπαρών.** Τα τρόφιμα που περιέχουν υψηλές περιεκτικότητες πολυακόρεστων λιπαρών εύκολα μπορούν να οξειδωθούν, η οποία οδηγεί σε ανεπιθύμητες δυσοσμίες και αρώματα, καθώς και σε εν δυνάμει τοξικές ενώσεις π.χ. οξείδια χοληστερόλης.
- **Νοθεία.** Η νοθεία των λιπών και των ελαίων μπορεί να ανιχνευθεί με μέτρηση του είδους του λιπαρού και να συγκριθεί με το προφίλ που αναμένεται από ένα μη νοθευμένο δείγμα.
- **Επεξεργασία τροφίμων.** Η βιομηχανία τροφίμων θα πρέπει να γνωρίζει τους τύπους των λιπαρών που είναι παρόντα έτσι ώστε να ρυθμίσει τις συνθήκες επεξεργασίας στις βέλτιστες τιμές π.χ. θερμοκρασίες, ροές κτλ.

# Προετοιμασία δείγματος

- Πρέπει το δείγμα να είναι αντιπροσωπευτικό των παρόντων λιπαρών στο τρόφιμο.
- Επίσης τα λιπαρά θα πρέπει να είναι σε ελεύθερη (καθαρή) μορφή.
- Δείγματα τροφίμων που αποτελούνται σχεδόν εξ ολοκλήρου από λιπαρά, π.χ. ελαιόλαδο, σπορέλαια, λαρδί, αναλύονται με πολύ μικρή προετοιμασία.
- Όμως για τα περισσότερα τρόφιμα είναι απαραίτητο να εκχυλιστεί και να καθαριστεί το λιπαρό περιεχόμενο πριν την ανάλυση.



- Το λίπος μερικές φορές μπορεί να εκχυλιστεί με απλή συμπίεση του τροφίμου για να απομακρυνθεί το λιπαρό μέρος τους π.χ. ψάρι, ξηροί καρποί, σπόροι.
- Όμως για τα περισσότερα τρόφιμα απαιτούνται πιο περίπλοκοι τρόποι εκχύλισης του λίπους, όπως οι μέθοδοι εκχύλισης με χρήση ή μη διαλύτη.
- Από τη στιγμή που θα διαχωριστεί το λίπος συνήθως τήκεται (ένα δεν είναι ήδη υγρό), φιλτράρεται ή φυγοκεντρείται για να απομακρυνθούν οι ξένες ύλες. Επιπλέον, συχνά ξηραίνονται για να απομακρυνθεί η υγρασία η οποία μπορεί να επηρεάσει την ανάλυση.
- Η οξείδωση μπορεί να ελαχιστοποιηθεί εάν προστεθούν αντιοξειδωτικά ή με flashing του περιέκτη με άζωτο και να προστατευθούν τα δείγματα από το φως και τη θέρμανση.



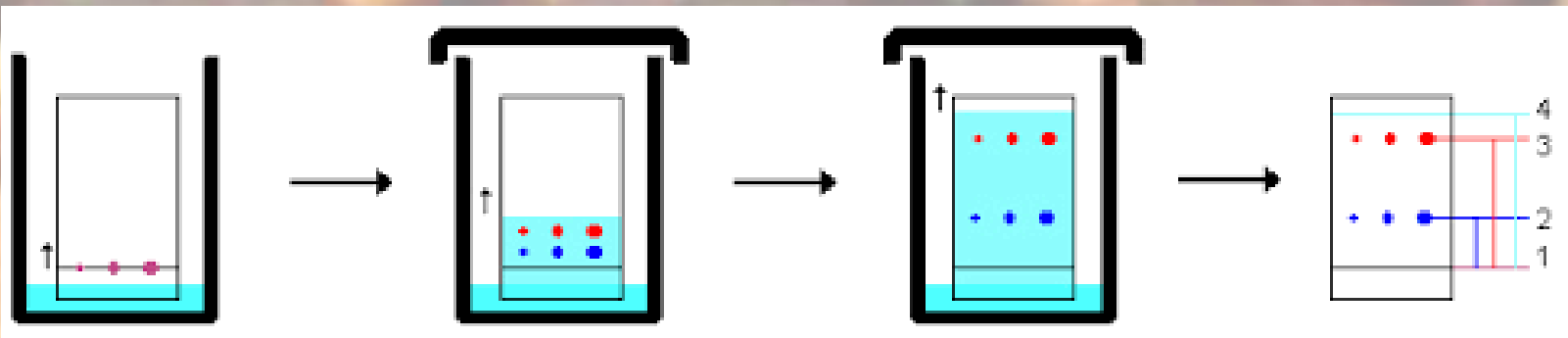
# Διαχωρισμός και ανάλυση με χρωματογραφία

- Η χρωματογραφία είναι μία από τις πιο δυναμικές αναλυτικές τεχνικές για διαχωρισμό και ανάλυση των ιδιοτήτων των λιπαρών, ειδικά όταν συνδυάζονται με τεχνικές ταυτοποίησής τους (π.χ. MS, NMR κτλ.).
- Υπολογισμός κορεσμένων, ακόρεστων και πολυακόρεστων λιπαρών, χοληστερόλης, τον βαθμό της οξείδωσης, βαθμό καταστροφής από θερμότητα ή ακτινοβολία, ανίχνευση νοθείας, προσδιορισμό της παρουσίας αντιοξειδωτικών.
- Διάφοροι τύποι χρωματογραφίας χρησιμοποιούνται για την ανάλυση λιπαρών στα τρόφιμα π.χ. χρωματογραφία λεπτής στοιβάδας (TLC), αέρια χρωματογραφία (GC) και υγρή χρωματογραφία υψηλής απόδοσης (HPLC).

# Λιπαρά κλάσματα με TLC

- Η TLC χρησιμοποιείται κυρίως για τον διαχωρισμό και προσδιορισμό της συγκέντρωσης διαφορετικών τύπων λιπαρών π.χ. τριγλυκερίδια, διγλυκερίδια, μονογλυκερίδια, χοληστερόλη, οξείδια χοληστερόλης και φωσφολιπίδια.
- Μία πλάκα TLC επιστρώνεται με ένα κατάλληλο απορροφητικό υλικό. Μία μικρή ποσότητα του δείγματος λίπους τοποθετείται στην πλάκα (με μορφή σταγόνας). Με τον χρόνο ο διαλύτης κινείται στην πλάκα λόγω τριχοειδών δυνάμεων και διαχωρίζει τα λιπαρά κλάσματα με βάση της συγγένειά τους με το απορροφητικό μέσο.
- Στο τέλος η πλάκα ψεκάζεται με βαφή έτσι ώστε να γίνουν ορατές οι κηλίδες.

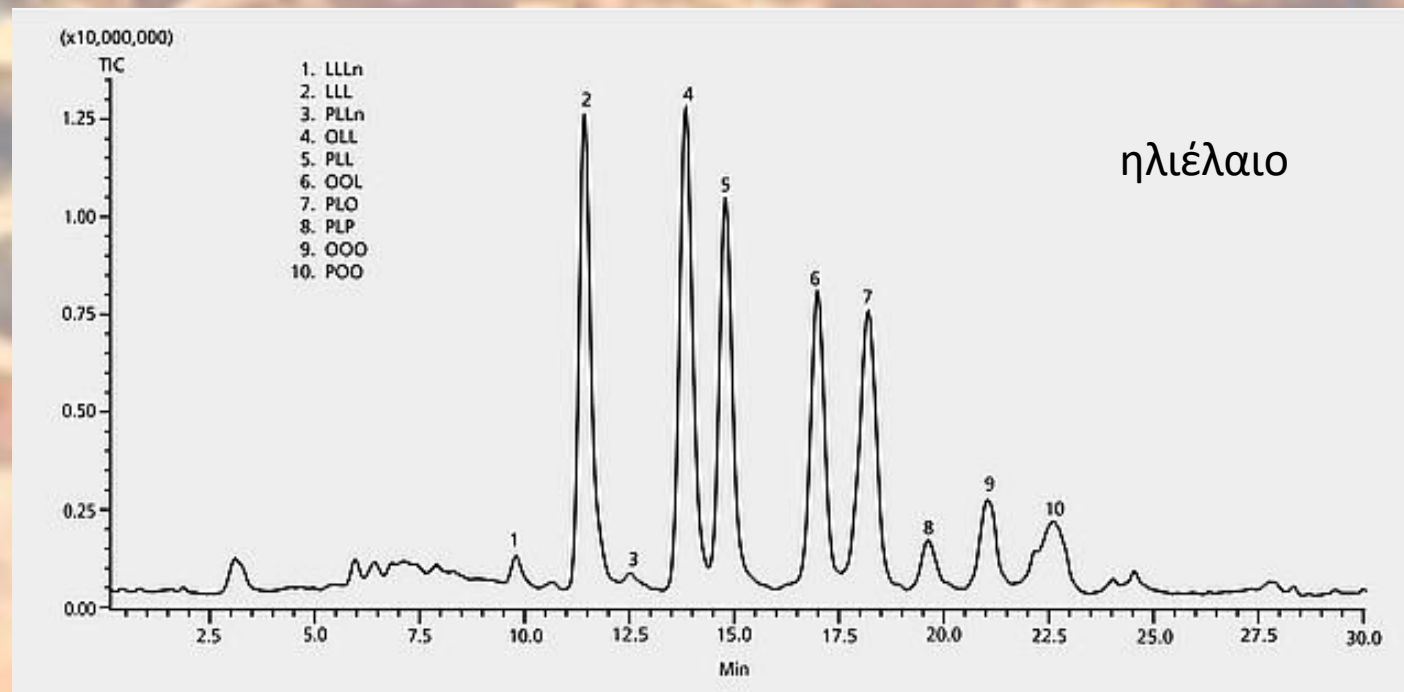
- Με σύγκριση της απόστασης των κηλίδων με πρότυπα γνωστής σύστασης μπορεί να ταυτοποιηθεί το λιπαρό. Οι κηλίδες μπορούν να αποξηθούν και να αναλυθούν περαιτέρω με τεχνικές όπως GC, NMR & MS. Οικονομική τεχνική και επιτρέπει γρήγορη ανάλυση των λιπαρών ενός τροφίμου.





# Γλυκερίδια

- Τα γλυκερίδια μίας λιπαρής ύλης μπορούν να αναλυθούν με HPLC και ανιχνευτή RI (refractive index detector-δείκ. διαθ.) και να υπολογιστεί η αναλογία τους σε μία λιπαρή ύλη.



L – λιγνελικό οξύ, O – ελαιικό οξύ, Ln – λινολενικό οξύ, P – παλμιτικό οξύ

# Μεθυλεστέρες λιπαρών οξέων με GC

- Τα τριγλυκερίδια και τα ελεύθερα λιπαρά οξέα δεν είναι πτητικά και είναι δύσκολο να αναλυθούν με GC (πρέπει να γίνουν πτητικά).
- Τα λιπαρά συνήθως παραγωγοποιούνται για να αυξηθεί η πτητικότητά τους.
- Τα τριγλυκερίδια συνήθως σαπωνοποιούνται (διάσπαση των εστέρων της γλυκερίνης) και στη συνέχεια μεθυλιώνονται.

Τριγλυκερίδια  $\xrightarrow{\text{CH}_3\text{OH}/\text{H}^+}$  Μεθυλεστέρες λιπαρών οξέων (FAMEs) + μεθυλογλυκερόλη

# Χημικές τεχνικές

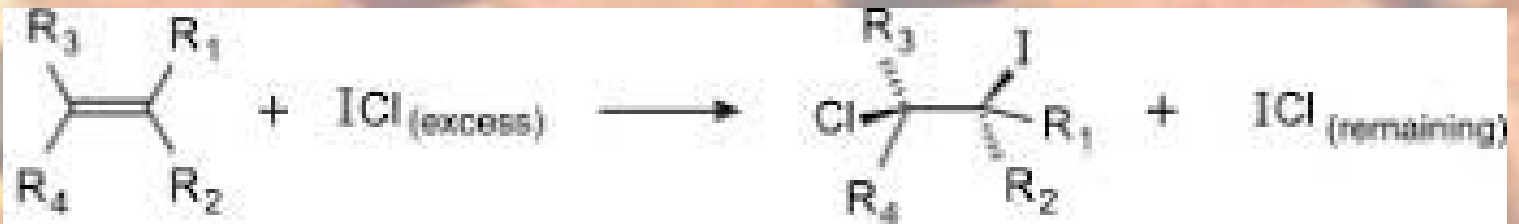
- Ένας μεγάλος αριθμός χημικών μεθόδων αναπτύχθηκαν για να δώσουν πληροφορίες για τον τύπο των λιπαρών σε εδώδιμα λίπη και έλαια.
- Αυτές οι τεχνικές είναι πιο «ακατέργαστες» από τις χρωματογραφικές τεχνικές, γιατί δίνουν πληροφορίες μόνο για τις μέσες ιδιότητες των λιπαρών π.χ. μέσο μοριακό βάρος, βαθμός ακορεστότητας ή το ποσό των λιπαρών.
- Επίσης είναι απλές στην εφαρμογή και δεν απαιτούν ακριβές συσκευές γι αυτό και χρησιμοποιούνται ευρέως στη βιομηχανία και την έρευνα.



# Αριθμός Ιωδίου

Δίνει το βαθμό ακορεστότητας του λιπαρού: υψηλή τιμή Ιωδίου → μεγαλύτερος αριθμός διπλών δεσμών.

Η μέθοδος Wijs: το λιπαρό ζυγίζεται, διαλύεται σε κατάλληλο διαλύτη και προστίθεται περίσσεια ICl που αντιδρά με τους διπλούς δεσμούς και αυτό δεν αντιδρά, μετατρέπεται σε I<sub>2</sub> το οποίο μετρείται με ογκομέτρηση Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub> με δείκτη άμυλο.



# Αριθμός Σαπωνοποίησης

- Ο αριθμός σαπωνοποίησης είναι ένα μέτρο του μέσου μοριακού βάρους των τριγλυκεριδίων σε ένα δείγμα.
- Τα mg KOH για την πλήρη σαπωνοποίηση 1g λίπους.

Τριγλυκερίδιο + 3 KOH } Γλυκερόλη + 3 άλατα λιπαρών οξέων με κάλιο

Τα λιπαρά οξέα μεγάλης αλυσίδας έχουν χαμηλή τιμή σαπωνοποίησης, επειδή έχουν σχετικά λιγότερες καρβοξυλικές δραστικές ομάδες ανά μονάδα μάζας του λίπους συγκριτικά προς τα λιπαρά οξέα βραχείας αλυσίδας.

# Οξύτητα

- Μέτρο του ποσού των ελεύθερων λιπαρών οξέων.
- Ογκομέτρηση με NaOH ή KOH.
- Είναι ένα μέτρο διάσπασης τριγλυκεριδίων προς λιπαρά οξέα (ποιότητα λιπαρών υλών).
- Μπορεί να υπερεκτιμηθεί παρουσία άλλων συστατικών π.χ. αμινοξέα ή φωσφορικά.



# Μέθοδοι ανάλυσης της οξείδωσης λιπαρών των τροφίμων

- Τα τρόφιμα με ιδιαίτερο υψηλό λιπαρό περιεχόμενο είναι ευοξειδωτά. Η οξείδωση είναι μία από τις κυριότερες αιτίες αλλοίωσης των τροφίμων διότι οδηγούν σε δυσοσμίες και τοξικές ενώσεις.
- Είναι ιδιαίτερα περίπλοκη πορεία και περιλαμβάνει διάφορες αντιδράσεις οι οποίες οδηγούν σε μία ποικιλία φυσικοχημικών αλλαγών των λιπαρών.

Αντιδρώντα

→ αρχικά προϊόντα οξείδωσης

→ δευτερογενή προϊόντα  
οξείδωσης

(ακόρεστα λιπαρά + O<sub>2</sub>) → (υπεροξειδία και συζυγή διένια) → (κετόνες, αλδεΐδες,

αλκοόλες, υδρογονάνθρακες)

## Λήψη οξυγόνου

- Το λιπαρό τοποθετείται σε έναν σφραγισμένο περιέκτη και παρέχεται το οξυγόνο έτσι ώστε να είναι σταθερή η συγκέντρωσή του στον υπερκείμενο χώρο.
- Όσο πιο πολύ οξυγόνο παρέχεται στον περιέκτη τόσο πιο γρήγορος ο ρυθμός οξείδωσης των λιπαρών.

# Αριθμός υπεροξειδίων

- Τα υπεροξείδια είναι τα αρχικά προϊόντα που σχηματίζονται στα αρχικά στάδια της οξείδωσης και έτσι είναι ένας δείκτης της πορείας οξείδωσης λιπαρών.
- Υπάρχει σφάλμα στη μέτρηση γιατί ένας χαμηλός αριθμός υπεροξειδίων μπορεί να σημαίνει ότι έχουν σχηματιστεί δευτερογενή προϊόντα.



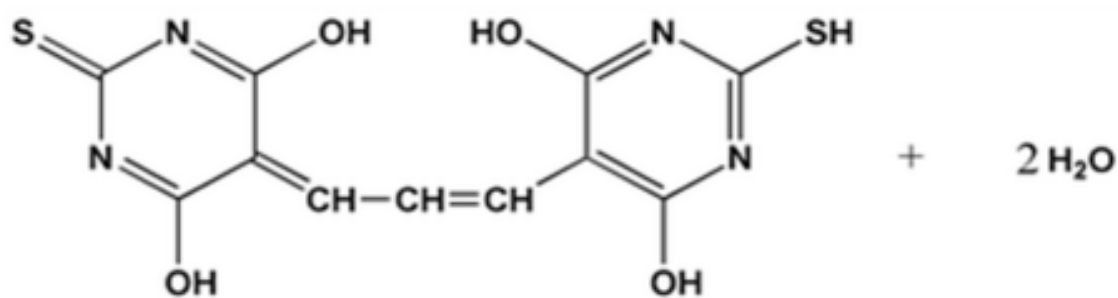
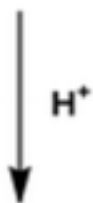
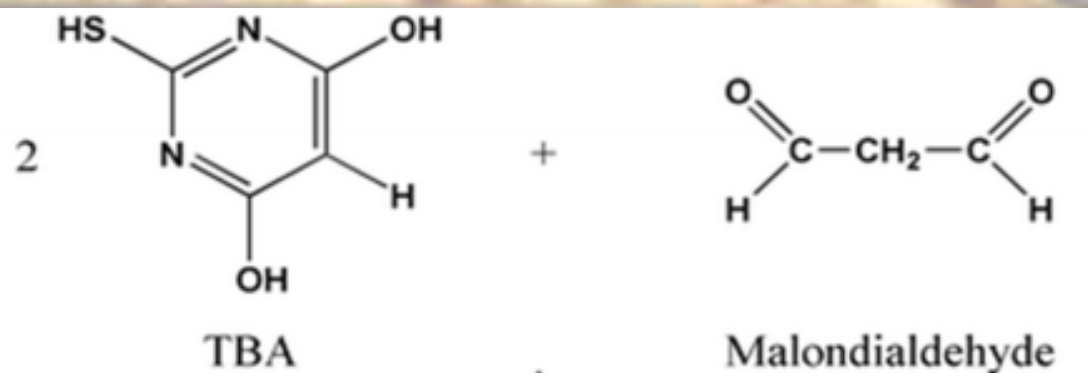


# Συζυγή διένια

- Μετά τον σχηματισμό των υπεροξειδίων οι διπλοί δεσμοί που είναι παρόντες στα φυσικά ακόρεστα λιπαρά ( $C=C-C-C=C$ ) μετατρέπονται σε συζυγείς διπλούς δεσμούς ( $C=C-C=C$ ).
- Τα συζυγή διένια απορροφούν ισχυρά στα 233nm ενώ τα συζυγή τριένια απορροφούν στα 268nm.
- Στη συνέχεια τα συζυγή διένια διασπώνται σε δευτερογενή προϊόντα (δεν απορροφούν στο UV).

# Θειοβαρβιτουρικό οξύ (TBA)

- Είναι ένα τα πιο κοινά τεστ για τον προσδιορισμό της έκτασης των λιπαρών οξειδωσης. Μετρά τη συγκέντρωση των πολικών **δευτερογενών** προϊόντων π.χ. αλδεΐδες.
- Εκχύλιση του λίπους, προσθήκη υδατικού διαλύματος TBA. Η υδατική φάση απομακρύνεται από τον πολικό διαλύτη και μετά από θέρμανση 20 min εμφανίζεται ροζ χρώμα. Η ένταση του χρώματος σχετίζεται άμεσα με τις ενώσεις που αντιδρούν με το TBA και προσδιορίζεται με μέτρηση στα 450nm.
- Σύμπλοκο TBA+μηλονική διαλδεΐδη. Μπορεί να αντιδράσει και με άλλα προϊόντα γι αυτό και η μέθοδος ονομάζεται ως TBARS.



Chromophore TBA-MDA



# Χρωματογραφία

- Μέτρηση των αλλαγών των λιπαρών.
- Καταγραφή της απώλειας των αντιδρώντων (ακόρεστα λιπαρά) και τη δημιουργία των προϊόντων (αλδεΐδες, κετόνες κ.α.)

## Επιταχυνόμενα tests οξείδωσης

- Συνήθως η οξείδωση χρειάζεται πολύ χρόνο γι αυτό εφαρμόζονται επιταχυνόμενα πειράματα οξείδωσης.
- Ένα δείγμα υγρό παραμένει στους 98°C και αέρας αναμιγνύεται συνεχώς με το δείγμα.
- Η σταθερότητα εκφράζεται σε ώρες της θέρμανσης μέχρι να λάβει μέρος η τάγγιση (οσμή ή μέτρηση του A.Y.)
- Χρησιμοποιείται το *Schaal Oven Test*. Μία γνωστή ποσότητα λαδιού στον φούρνο σε συγκεκριμένη θερμοκρασία (65°C) και προσδιορίζεται ο χρόνος τάγγισης.

# Χαρακτηρισμός φυσικοχημικών ιδιοτήτων

- **Περιεκτικότητα σε στερεά λιπαρά (SFC)** → το ποσοστό του στερεού μέρους του λίπους.

$$SFC = 100M_{\text{solid}}/M_{\text{total}}$$

- **Σημείο τήξης**

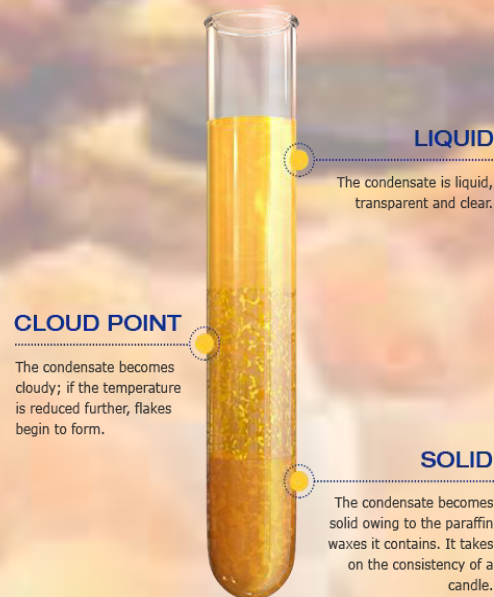
**Clear point:** ένα μικρό δείγμα λίπους σε ένα τριχοειδή σωλήνα θερμαίνεται σε ελεγχόμενο ρυθμό. Η θερμοκρασία που πλήρως τήκεται.

**Slip point:** το σημείο που ξεκινά να κινείται λόγω βαρύτητας.

**Wiley melting point:** ένας δίσκος λίπους βρίσκεται πάνω από ένα μίγμα αλκοόλης-νερού (παρόμοια πυκνότητα) και θερμαίνεται με σταθερό ρυθμό. Η θερμοκρασία στην οποία αλλάζει το σχήμα και γίνεται σφαίρα.



- **Θερμοκρασία θολώματος:** Η θερμοκρασία στην οποία η κρυστάλλωση ξεκινά σε υγρό έλαιο. Θερμαίνεται για να τακούν όλοι οι κρύσταλλοι (130°C). Μετά ψύχεται με ελεγχόμενο ρυθμό και προσδιορίζεται η θερμοκρασία στην οποία το υγρό θολώνει.



## Σημεία καπνισμού, ανάφλεξης και φωτιάς

- **Σημείο καπνισμού:** η θερμοκρασία στην οποία το δείγμα αρχίζει να καπνίζει (συγκεκριμένες συνθήκες).
- **Σημείο ανάφλεξης:** εμφάνιση «λάμψης» (αστραπής) σε οποιοδήποτε σημείο της επιφάνειας λόγω ανάφλεξης πτητικών αέριων ενώσεων.
- **Σημείο καύσης:** καύση των πτητικών ενώσεων λόγω θερμικής αποικοδόμησης των λιπαρών (εμφάνιση φωτιάς).

# Θερμοκρασία Titer

- Titer είναι ένα μέτρο της σκληρότητας δείγματος λίπους → διάκριση ζωικών λιπών (tallow) και μαγειρικών λιπών (grease).
- Προσδιορισμός με σαπωνοποίηση του λίπους → λιπαρά οξέα.
- Το τηγμένο μίγμα ψύχεται με παρακολούθηση της θερμοκρασίας.
- Κατά την αρχή της κρυστάλλωσης → μικρή αύξηση της θερμοκρασίας → θερμοκρασία Titer.
- Ζωικά λίπη → Titer > 40 → λαρδί (tallow) – Titer < 40 → μαγειρικά λίπη (grease).



# Ρεολογία

- Η ρεολογία είναι η επιστήμη που σχετίζεται με τη παραμόρφωση και τη ροή ενός υλικού.
- Εφαρμογή δύναμης και μέτρηση της ροής ή του σχήματος.
- Κρεμώδες, χυμώδες, απαλότητα, ευθραυστότητα, τρυφερότητα, σκληρότητα κ.α.
- Ένα από τα πιο σημαντικά ρεολογικά χαρακτηριστικά των λιπαρών είναι η πλαστικότητα τους που προσδιορίζει τη δυνατότητα επάλειψης (κρύσταλλοι → τρισδιάστατο πλέγμα → χαρακτηριστικά στερεού).