

STUDIO DELLA CINETICA DI ESTRAZIONE DEL METANOLO DURANTE IL PROCESSO DI PREPARAZIONE DEL LIQUORE DI LIMONE

Dipartimento di Scienza degli Alimenti, Facoltà di Agraria, Università Federico II di Napoli,
Portici

INTRODUZIONE

La presenza di metanolo nei liquori ottenuti dagli agrumi può essere dovuta all'utilizzo di alcool non puro o dal probabile rilascio dell'alcole dovuto alla de-esterificazione delle pectine ad opera dell'enzima pectin metil esterasi (PME) (1). Durante diversi processi tecnologici, come ad esempio l'estrazione dei succhi, tale enzima viene rilasciato ed idrolizza le pectine trasformandole gradualmente in pectine a basso grado di metilazione o in acidi pectici (2). La ricerca è orientata alla determinazione di tale solvente in bevande a forte diffusione commerciale, come il liquore di limoni preparato utilizzando Limoni di Sorrento I.G.P. In questa sperimentazione è stata considerata la problematica relativa alla valutazione dell'influenza di diverse variabili quali: il grado di maturazione dei limoni e la presenza dell'albedo, sulla cinetica di estrazione del metanolo nel liquore di limone. È importante ricordare che il limite legislativo minimo consentito di metanolo nei liquori di agrumi è pari a 50mg/100 ml di alcool anidro (3).

MATERIALI E METODI

Sono state asportate e messe a macerare in recipienti di vetro, al buio e ad una temperatura di 20°C, in alcool etilico al 96% v/v rapporto solido liquido 1/3 p/V, bucce di limoni a diverso grado di maturazione (bucce verdi, intermedie e gialle), bucce con e senza albedo. I corrispondenti infusi sono stati messi a macerare a temperatura ambiente per 9giorni.. I reagenti e i materiali impiegati per le procedure sperimentali sono stati:

- Alcool etilico al 96% v/v (Carlo Erba, Milano, Italia);
- Standard interno n-propanolo (Fluka Chemie, Buchs, Switzerland).

I limoni utilizzati sono stati prodotti nella penisola Sorrentina nell'annata 2004-2005. L'analisi del contenuto in metanolo è stata effettuata via GC-FID con Gas cromatografo DANI mod. 8521-a; Colonna capillare 50 m, 0,25 i.d., 0,25 µm f.t., con fase stazionaria 90% bis-Cianopropyl Methyl Silicon (Quadrex 007-23) (Quadrex Corporation, CT, USA). Le condizioni di lavoro erano:

- Gas di trasporto : He, flusso 1,8 ml/min;
- Rapporto Splittaggio: 1/100;
- Temperatura del rivelatore FID: 250°C;
- Programmata della camera: 38°C per 10 min, incremento di 25°C/min fino a 240°C per 5 min.

La determinazione del contenuto in metanolo degli infusi è stata effettuata mediante l'impiego di uno standard interno: n-propanolo, e la costruzione di una retta di taratura con 4 soluzioni a titolo noto di alcool metilico a differenti concentrazioni (10, 20, 50, 100 ppm).

RISULTATI E DISCUSSIONE

La presenza di metanolo negli infusi di bucce di limone a diverso grado di maturazione, con e senza albedo, è stata valutata via GC-FID. In fig. 1 è riportato il tipico gas cromatogramma di un infuso contenente metanolo.

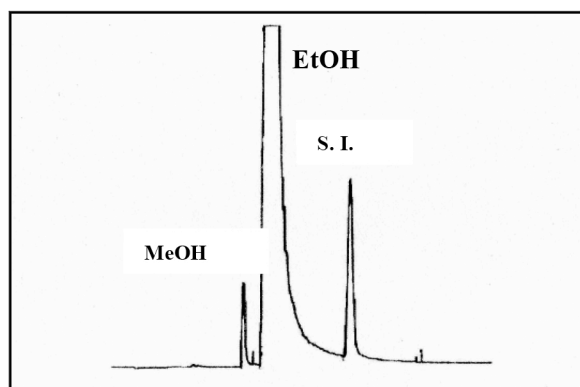


Fig. 1 - Profilo cromatografico del metanolo in infusi di limone.

La concentrazione di metanolo rilevata negli infusi di limone a diverso grado di maturazione (bucce verdi, intermedie e gialle) non ha superato il valore di 10 mg/l per alcool anidro. La cinetica di estrazione durante la fase di macerazione, è stata riportata in fig. 2.

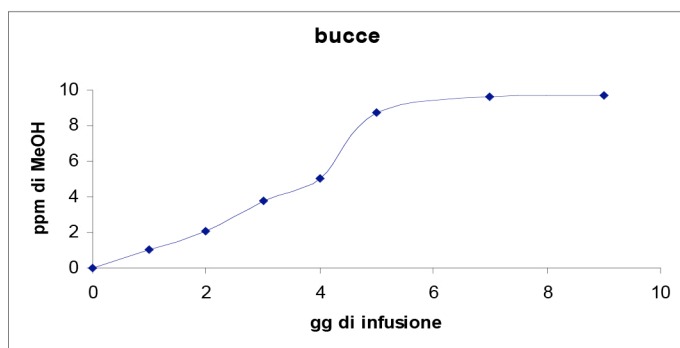


Fig. 2 - Evoluzione del contenuto in metanolo (ppm/alcool anidro) durante la fase di macerazione delle bucce.

I risultati dell'analisi GC degli infusi confermano che nel corso della macerazione la concentrazione di metanolo rilevata aumenta fino a raggiungere valori costanti al 7° giorno di estrazione.

Il minor quantitativo rilevato nei primi giorni di infusione, in accordo con quanto sostenuto da Nota *et al.* (2001)(4), può essere spiegato ricordando che durante questa fase avvengono due fenomeni:

- Diffusione dell'acqua contenuta nelle bucce verso la soluzione alcolica (fenomeno di diluizione);
- Diffusione della fase alcolica (metanolo ed etanolo) verso l'interno delle bucce (fenomeno di adsorbimento).

Gli infusi composti da bucce ed albedo, hanno mostrato un andamento della concentrazione in metanolo alquanto discontinuo, assestandosi al nono giorno di infusione ad un valore di concentrazione in metanolo di circa 25 ppm/alcool anidro (fig. 3).

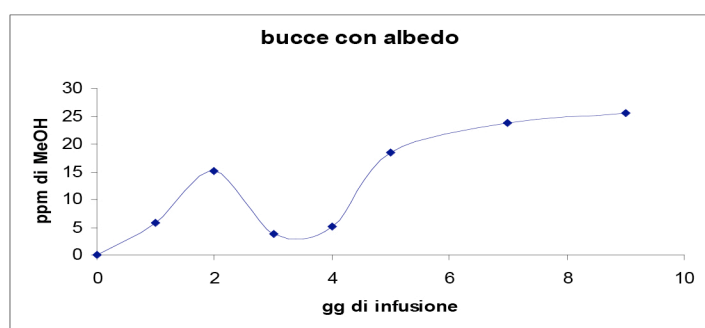


Fig. 3 - Evoluzione del contenuto in metanolo (ppm/alcool anidro) durante la fase di macerazione di bucce con albedo.

Questo tipo di andamento è dovuto sia al processo dinamico di diffusione dell'alcool e dell'acqua, sia ipotizzando un probabile rilascio di metanolo a causa della de-esterificazione delle pectine dell'albedo. A completamento della sperimentazione è stata valutata, inoltre, la presenza di metanolo in liquori di limone normalmente reperibili in commercio (tab. 1). Su 25 campioni analizzati mediamente il valore riscontrato di metanolo è stato pari a 17,24 mg/100 ml di alcool anidro.

Tabella 1 - Contenuto in metanolo di liquori di limoni in commercio.

Campioni analizzati	25			Limite Legislativo
	MIN	MEDIA	MAX	
mg di metanolo/ 100 ml di alcool anidro	<10	17,24	25,3	50

CONCLUSIONI

Il tempo di estrazione e la materia prima utilizzata per l'ottenimento del liquore di limoni, non hanno influenzato la concentrazione di metanolo che si mantiene durante tutto il corso della macerazione al di sotto del limite legislativo. Utilizzando le bucce in presenza di albedo la concentrazione in metanolo risulta raddoppiata rispetto alle sole bucce in infusione, ma tale valore è comunque al di sotto dei limiti legislativi. Concludendo la presenza di alcool metilico rilevabile è dovuta all'uso, accidentale o volontario, di etanolo contaminato.

BIBLIOGRAFIA

- 1) Revilla I., González-SanJosé M. L. Methanol release during fermentation of red grapes treated with pectolytic enzymes. *Food Chemistry*, 1998, 63(3), 307-312.
- 2) Basak S., Ramaswamy H. S. Ultra High pressure treatment of orange juice: a kinetic study on inactivation of pectin methyl esterase. *Food Research International*, 1996, 29, 7, 601-607.
- 3) Wang M., Wang J., Choong Y. A rapid and accurate method for determination of methanol in alcoholic beverage by direct injection capillary gas chromatography. *Journal of Food Composition and Analysis*, 2004, 17, 187-196.
- 4) Nota G., Naviglio D., Romano R., Sabia V., Attanasio G., Spagna Musso S. Examination of the lemon peel maceration step in the preparation of lemon liquor. *It. Food & Beverages Techn.*, 2001, Maggio, 2, 5-9.
- 5) Chen S., Wu H., Yen C., Wu S., Lin S., Kou H. Trace determination of methanol in water-ethanol solution by derivatization and high-performance liquid chromatography. *Journal of Chromatography A*, 1998, 799, 93-99.
- 6) Nota G., Battaglia A., Schiavo L., Orefice G., Acampora A., Santini A. Accurate determination of the alcohol percentage in citrus peel alcoholic extracts and liqueurs by density measurements. *Italian Food and Beverage Technology*, 2004, 36, 1-4.
- 7) Gorinstein S., Martín-Belloso O., Park Y. S., Haruenkit R., Lojek A., Ciz M., Caspi A., Libman I., Trakhtenberg S. Comparison of some biochemical characteristics of different citrus fruits. *Food Chemistry*, 2001, 74, 309-315.
- 8) Gossel T. A., Bricker J. D. *Principles of chemical toxicology*. Raven Press, New York, 1994, 82.
- 9) Mizgunova U. M., Zolotova G. A., Dolmanova I. F. Enzymatic method for the determination of ethanol and methanol with spectrophotometric detection of the rate of the process. *Analyst*, 1996, 121, 431-433.
- 10) Nielsen J. E., Christensen Tove M. I. E. Distribution of pectin methyl esterase and acetyl esterase in the genus *Citrus* visualized by tissue print and chromatography. *Plant Science*, 2002, 162, 799-807.

La presenza di metanolo nei liquori di agrumi può essere dovuta all'utilizzo di alcool non puro o come prodotto estratto dalle pectine delle bucce di limone durante le fasi del processo produttivo. In questa sperimentazione è stata considerata la problematica relativa alla valutazione dell'influenza di diverse variabili quali: il grado di maturazione dei limoni e la presenza dell'albedo sulla concentrazione in metanolo del il liquore di limoni preparato utilizzando Limoni di Sorrento I.G.P. Gli infusi ottenuti sono stati analizzati vi GC-FID, durante 9 giorni di macerazione. Dallo studio è emerso che il tempo di estrazione ed il grado di maturazione della materia prima utilizzata, non influisce sulla concentrazione in metanolo nel liquore di limone. Di conseguenza la presenza di alcool metilico è dovuta all'uso, accidentale o volontario, di etanolo contaminato.

SUMMARY

The presence of methanol in the liqueurs of citruses can be due to use of not pure alcohol or as the product extracted from the pectine of the lemon peels during its production process. In this experimentation it has been considered the problematic of the influence of various variables as the degree of maturation of the lemons and the presence of the albedo on the concentration of methanol in liqueur of lemons prepared using Lemons of Sorrento I.G.P. The obtained instilled ones has been analysed trough GC-FID, during 9 days of maceration. In this study it is emerged that the time of extraction and the degree of maturation of the raw materials used, do not influenced the concentration of methanol in the lemon liqueur. Consequently the methyl alcohol presence is due to the use, accidental or voluntary, of contaminated ethanol.