



Menta? Piperita L.!!!

QUANDO SI DICE ESSENZIALE....

Sintesi

Le erbe officinali hanno sempre avuto un ruolo importante e diffuso nella cultura nostra cultura alimentare. In questi ultimi anni la cucina “creativa” ha proposto al pubblico l’utilizzo anche di oli essenziali che, usati in piccolissime quantità, conferiscono ai piatti sfumature olfattive innovative.

Sul WEB possiamo trovare tantissime ricette “fai da te” non soltanto per quanto riguarda la produzione domestica di oleoliti ma anche per quella di oli essenziali, ricavati con metodi simili a quelli della Farmacopea ufficiale.

Gli oli essenziali sono però solo alcune delle sostanze che si possono estrarre, e che si estraggono, con questi processi.

In questa serie di esperienze ci siamo proposti di indagare un pò più a fondo sulla composizione di ciò che si può ottenere con una distillazione in corrente di vapore.

Abbiamo usato come pianta di riferimento una delle eccellenze del territorio piemontese, la *Mentha piperita* L.

I

Fase di documentazione: schede riguardanti la specie botanica, la storia della sua coltivazione nel territorio della nostra provincia, la tecnica utilizzata per l’estrazione (prevista dalla Farmacopea), l’elenco dei componenti maggioritari dell’olio essenziale.

II

Estrazione in corrente di vapore, separazione dei componenti mediante TLC

Confronto tra il cromatogramma ottenuto con il nostro campione e quello ottenuto con olio essenziale prodotto industrialmente

III

Sintesi di uno dei componenti più importanti dell’olio essenziale (acetato di mentile)

IV

Osservazione del tessuto fogliare

V

Preparazione dello sciroppo di *Mentha piperita* L.

VI – Laboratorio diffuso: Uscita sul territorio- Visita guidata al Museo della Menta di Pancalieri-

<http://www.menta.it/casa-chialva-pancalieri-un-luogo-straordinario-per-la-sua-cultura-i-suoi-saperi-e-i-suoi-sapori/>

Materiale introduttivo

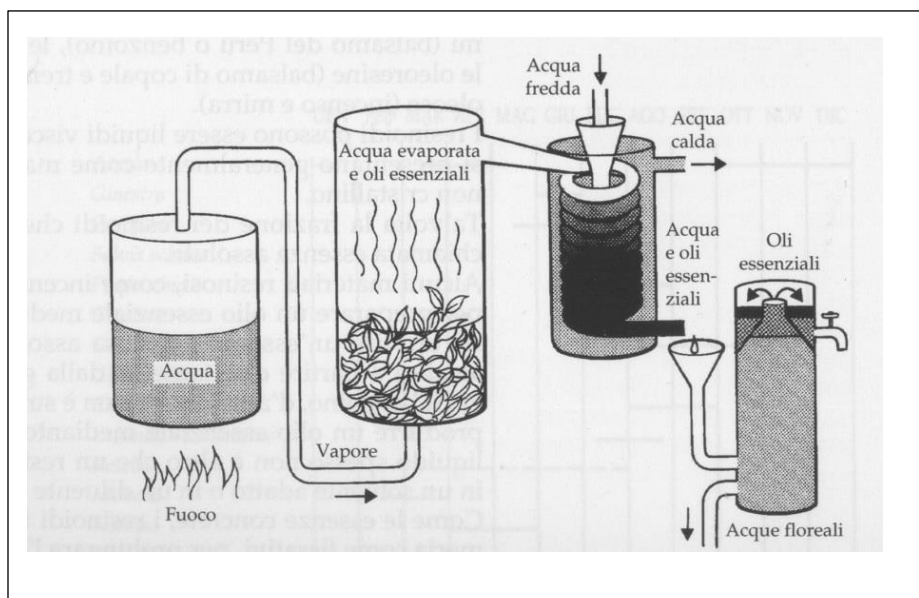
La specie botanica, la storia della coltivazione in Piemonte

Tecniche di estrazione e prodotti estrazione

L'olio essenziale greggio di menta piperita è ottenuto dalla distillazione in corrente di vapore dell'erba verde in pianta intera proveniente dalla coltivazione della specie botanica *Mentha piperita* L., varietà *Officinalis* sole, forma *Rubescens* Camus.

La menta piperita, un ibrido tra la *Mentha aquatica* e la *Mentha spicata*, viene introdotta in Italia nel 1903 da Honorè Carles, associatosi nel 1901 a Giovanni Varino, fondatore della omonima distilleria di Pancalieri nel 1870. Negli anni Trenta si arrivò nella zona alla massima diffusione della coltivazione, sia per le elevate rese in campo che per la qualità del prodotto, fattori che coltivatori e distillatori trovavano particolarmente positivi. Attualmente sono 300 gli ettari coltivati a *Mentha piperita* nella zona di Pancalieri e la produzione secca annua si aggira attorno ai 15.000 kg (dati Cooperativa Erbe Aromatiche Pancalieri). *Per ulteriori informazioni continuare a leggere*¹

La Farmacopea prevede le seguenti caratteristiche per le apparecchiature utilizzate nell'estrazione di oli essenziali²:



¹ <http://www.saporidelpiemonte.net/blog/prodotti-tipici-del-piemonte/olio-essenziale-di-menta-piperita-piemonte-o-pancalieri-piemonte/>

² <http://www.regione.piemonte.it/governo/bollettino/abbonati/2001/36/siste/00000009.htm>

**Materiale
introduttivo**

La distillazione è realizzata per mezzo di alambicchi in metallo, costituiti da un corpo contenitore del prodotto da distillare, da un coperchio, da una serpentina in acciaio per la condensazione delle frazioni volatili. Il vapore può essere prodotto sia all'interno dell'alambicco che da una caldaia ad esso collegata.

Le sostanze presenti nell'olio essenziale greggio sono le seguenti (corredate delle percentuali limite , dati da European Pharmacopeia 9.0 07/2012:0405)

Limonene 1,0%-3,5%

1,8-cineolo 3,5%-8,0%

Mentone 14,0%-32,0%

Mentofurano 1,0%-8,0%

Isomentone 1,5%-10%

Mentilacetato 2,8%-10,0%

Isopulegolo max 0,2%

Mentolo 30,0%-55,0%

Pulegone max 30%

Carvone max 1%

L'olio essenziale greggio deve essere sottoposto, prima dell'uso alimentare, ad una serie di ridistillazioni sottovuoto (processo di rettificazione) per ridurre componenti indesiderati, come i terpeni.

**Estrazione in
corrente di vapore**

Materiale occorrente

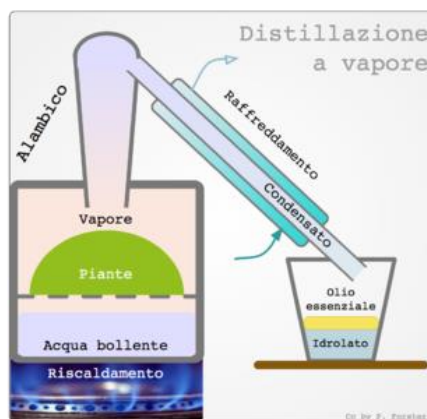
Strumentazione
occorrente

Mentha piperita L. foglie (preferibilmente fresche oppure essiccate) in quantità tale da riempire il cestello

Acqua distillata

Na_2SO_4

Apparecchio distillatore oli essenziali corrente di vapore a produzione di vapore interna



Si riempie il cestello con le erbe private della parte più legnosa , si chiude con il coperchio, si collega il refrigeratore alla presa d'acqua e allo scarico e si avvia il riscaldamento. Si procede con l'estrazione per almeno due ore.

Al termine si raccoglie l'olio essenziale, si eliminano le eventuali goccioline residue di acqua con Na_2SO_4 anidro e si conserva l'olio in un contenitore tappato, al riparo della luce e a $T= 4^\circ\text{C}$.

Analisi estratto**Materiale**

L'estratto può venire analizzato con una TLC (metodo indicato anche dalla Eu.Pharm.9.0).

Lastre TLC Silica gel F₂₅₄

Camera sviluppo

Lampada UV 254 nm

Stufa

n-Esano/ Toluene

Etil acetato

Reagenti

Mentolo, timolo, 1,8-cineolo, mentil acetato (per la miscela di riferimento)

Iodio cristalli

Anisaldeide soluzione

Olio essenziale menta piperita commerciale (per confronto)

Procedura

Soluzione del campione: prelevare 0,1 g di sostanza da esaminare, mescolare con il solvente (toluene o esano) e portare a volume (10 mL).

Soluzione di riferimento: sciogliere 50 mg di mentolo, 20µL di cineolo, 10 mg di timolo e 10 µL di acetato di mentile in toluene/esa e portare a volume (10 mL).

Preparazione fase mobile: etile acetato/toluene (5:95 V/V) o etile acetato/esano (10:90 V/V)

Applicare su una lastra al gel di silice 1 µL di soluzione di riferimento e 2 µL della soluzione del campione.

Fare sviluppare il cromatogramma su un cammino di 15 cm.

Asciugare all'aria.

Analisi estratto

Altro metodo: trattare con soluzione di anisaldeide, asciugare in stufa a 100-105°C per 10 minuti max e osservare alla luce solare

Dalla Eu.Pharm. 9.0 si può avere un esempio di un cromatogramma con i vari componenti di un olio essenziale standard di menta piperita (trattamento con anisaldeide)

Lastra TOP	
	Intensa zona rosso-violetta (vicina al fronte del solvente):idrocarburi
	Zona marrone-gialla (mentofurani)
Zona blu-violetta: acetato di mentile	Zona blu-violetta: acetato di mentile Zona blu-verde: mentone
Zona rosa: timolo	Zona rosa chiaro o blu-verde o grigio-verde (carvone, pulegone, isomentone)
Zona blu-violetta o marrone: 1,8-cineolo	Zona sbiadita blu-violetta o marrone: 1,8-cineolo
Zona intensa blu o violetta: mentolo	Zona intensa blu o violetta: mentolo
Soluzione riferimento	Soluzione campione

Si può pensare di sviluppare anche un cromatogramma in cui corrono affiancati il campione estratto e un olio essenziale commerciale per confrontare la posizione delle varie macchie e provare a verificare la presenza dei vari componenti

Sintesi acetato di mentile

Materiale

Mentolo
Acido acetico glaciale
 H_2SO_4 soluzione diluita 25%
 NaHCO_3 soluzione satura
 CaCl_2

Strumentazione

Bagno d'olio
Condensatore a refluxo
Pallone fondo tondo 100 mL
Imbuto separatore
Beuta 25 ml
Apparecchiatura per filtrazione

Procedura
(esterificazione di Fischer)

Nel pallone a fondo tondo immettere 4 g di mentolo sciogliendoli in 4,5 mL di acido acetico glaciale, sotto agitazione, e aggiungere 0,5 mL di acido solforico al 25% W/W.

Collegare il refrigerante e portare lentamente ad ebollizione per circa 2 ore.

Dopo il raffreddamento, travasare la miscela (di colore giallognolo) in un imbuto separatore per eliminare la frazione acquosa acida. Lavare più volte la fase organica contenente l'estere con una soluzione satura di NaHCO_3 sino alla neutralizzazione completa. L'estere, che ha $d=0,92$ g/mL, non si mescola con la fase acquosa.

Immettere il prodotto della reazione in una beutina da 25 mL per essiccare con Na_2SO_4 anidro (1,5 g) e filtrare. Raccogliere infine l'estere. Calcolare, dopo pesata, la resa della reazione.

Si esegue una cromatografia TLC (modalità precedentemente descritte) sul campione prodotto in confronto con l'olio essenziale commerciale calcolando R_f e paragonandolo al valore noto in letteratura (R_f per acetato di mentile 0,65).

Osservazione tessuto fogliare

Le osservazioni sono compiute inizialmente con uno stereomicroscopio (4x, 10x) sulla pagina inferiore delle foglie. Sono visibili i tricomi secretori.



I tricomi secretori possono essere uni- o pluricellulari. Frequentemente il prodotto della secrezione, costituito da oli essenziali, si accumula al di sotto della cuticola che si stacca perciò dalla parte sottostante. La cuticola si può rompere e il prodotto della secrezione viene liberato. E' ciò che accade quando sfregiamo una foglia di menta.

L'osservazione continua su un microscopio ottico.

Nella pagina successiva uno schema estratto dalla Eu.Phar. 9.2, 07/2017:0406, Peppermint Leaf, che può essere d'aiuto nella identificazione di strutture fogliari al microscopio ottico, previa preparazione del tessuto

Osservazione tessuto fogliare

Peppermint leaf

Peppermint leaf is green or brownish-green, with brownish-violet veins in some varieties. The petioles are green or brownish-violet.

IDENTIFICATION

A. The leaf is entire, broken or cut, thin, fragile and often crumpled; the entire leaf is 3-9 cm long and 1-3 cm wide. The lamina is oval or lanceolate, the apex acuminate, the margin sharply dentate and the base asymmetrical. Venation is pinnate, prominent on the lower surface, with lateral veins leaving the midrib at about 45°. The lower surface is slightly pubescent and secretory trichomes are visible under a lens (6×) as bright yellowish points. The petiole is grooved, usually up to 1 mm in diameter and 0.5-1 cm long.

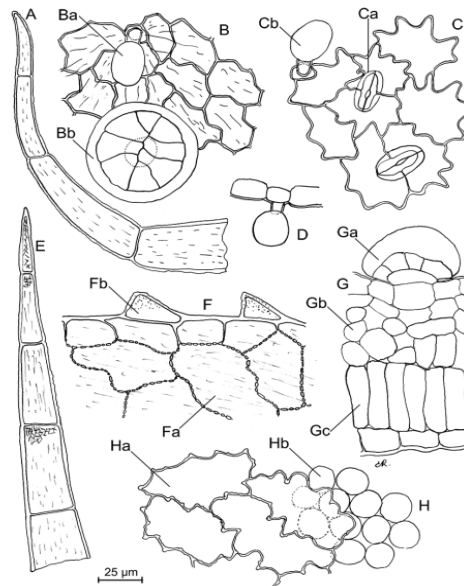


Figure 0406.-1. – Illustration for identification test B of powdered herbal drug of peppermint leaf

B. Microscopic examination (2.8.23). The powder is brownish-green. Examine under a microscope using *chloral hydrate solution R*. The powder shows the following diagnostic characters (Figure 0406.-1): fragments of epidermises bearing covering and glandular trichomes; adaxial epidermis (surface view [B, H]) having cells with sinuous-wavy walls [Ha] and cuticle striated over the veins [B] associated with palisade parenchyma [Hb]; abaxial epidermis [C] with diacytic stomata (2.8.3) [Ca]; covering trichomes are usually fragmented, elongated, uniseriate with 3-8 cells with striated cuticle [A, E]; glandular trichomes of 2 types: a) unicellular stalk with small, rounded unicellular head 15-25 μm in diameter (surface view [Ba, Cb], transverse section [D]), b) unicellular stalk with enlarged oval head 55-70 μm in diameter composed of 8 radiating cells (surface view [Bb], transverse section [Ga]); fragments from near the leaf margin [F] with isodiametric cells whose anticlinal walls are more-or-less straight and beaded [Fa] and short, conical, unicellular or bicellular covering trichomes [Fb]; dorsiventral mesophyll fragments (transverse section [G]), with a single palisade

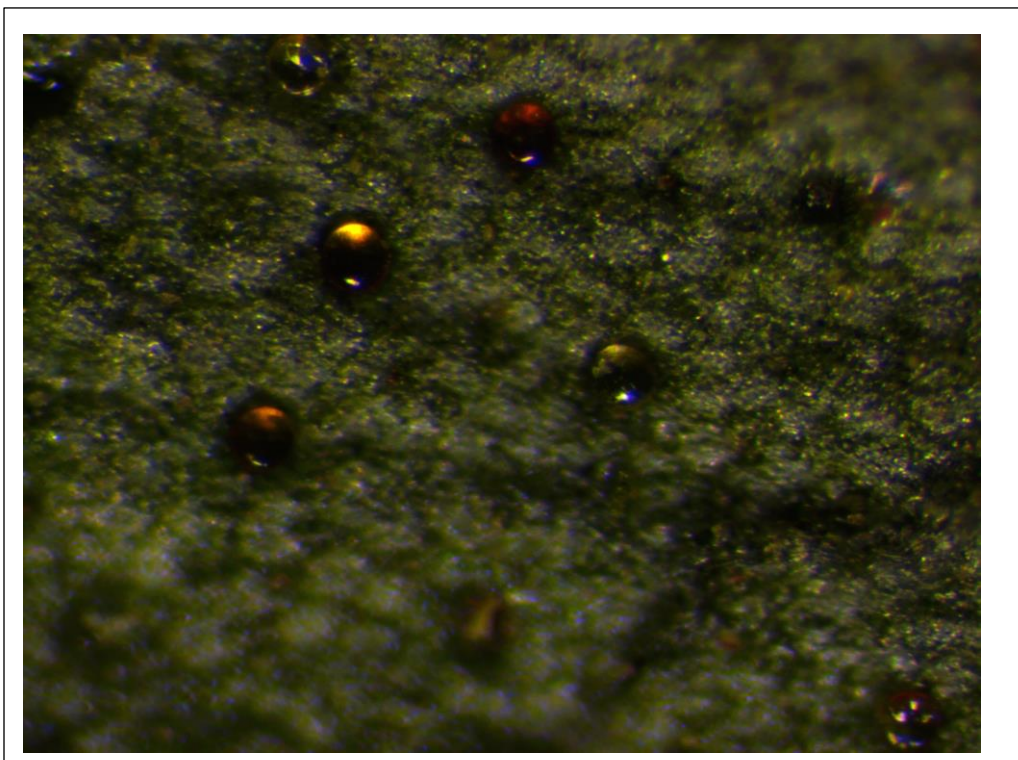
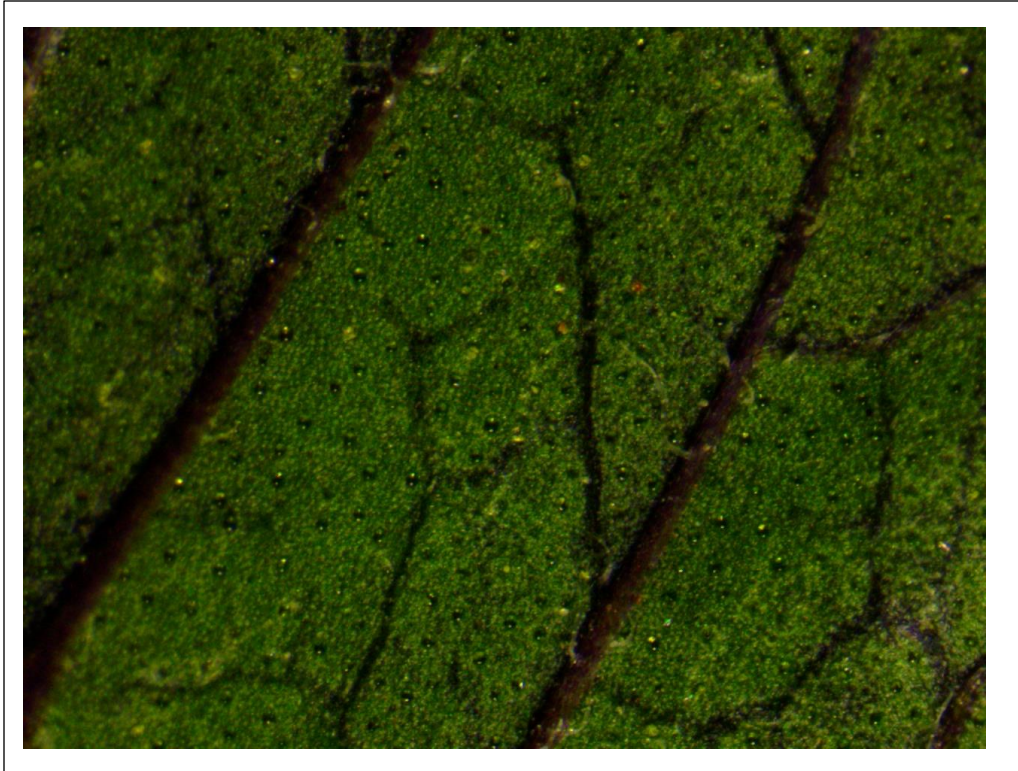


Immagine delle pagine inferiori di foglie di Mentha pipierita L. (fornite dal dott. Villa della Martin Bauer)

Preparazione sciroppo menta piperita

Materiale

La seguente preparazione segue le indicazioni della Farmacopea Italiana.

Le dosi sono per 1 kg di sciroppo

Acqua depurata 335 g
Saccarosio 665 g
Olio essenziale Mentha piperita L. 0,9 g
Acido citrico 0,5 g
Piastra riscaldante
Termometro
Contenitore per portare all'ebollizione acqua e riscaldare la miscela
Bilancia tecnica
Imbuto e garza sterile











Scaldare all'ebollizione per 20 minuti una quantità sufficiente di acqua depurata (200-250 g)

Mantenendo la temperatura attorno agli 80-85°C sciogliere il saccarosio, agitando bene e aggiungere l'acido citrico e l'olio essenziale. Mescolare bene per omogeneizzare. Filtrare a caldo su garza, su un imbutto precedentemente riscaldato.

Mescolare il filtrato e portare a peso con acqua depurata, precedentemente portata all'ebollizione per 20 minuti.

REAGENTI UTILIZZATI

SIMBOLI RISCHIO CHIMICO- FRASI H – CONSIGLI P

n-esano		H 225, 304, 331, 373,315,336,441	P 210, 240, 273, 301+310,331,302+352
Acetato di etile		H 225,319,336	P 210, 240, 305+351+338
mentolo		H 315	P 262, 302+352
timolo		H 302, 314, 411	P 273, 301+330+331, 301+351+338, 309+310
1,8.cineolo		H226	P 210
I ₂		H 400, 312,332	P 261, 273, 280, 301+310
anisaldeide		H 302, 315, 319, 335	P 261, 280, 305+351 + 338
Acido acetico		H 314, 225	P 280, 301+330 + 331, 305+351+338, 307+310
Acido solforico		H 314,290,	P 280, 310+330+331, 305+351+338,309+310
Cloruro di calcio		H 319	P 305+331+358

RIFERIMENTI BIBLIOGRAFICI

European Pharmacopoeia 9.2

Sez. 07/2012:0405 Peppermint oil – Menthae piperitae aetheroleum

Sez. 01/2008:2098 Essential oli – Aetherolea

Sez. 07/2017:0406 Peppermint leaf – Menthae piperitae folium

Sez. 01/2008:20812 corrected 6.0 Essential oils in herbal drugs

http://www.regione.piemonte.it/agri/area_tecnico_scientifica/ricerca/dwd/16febbraio/01-DEF-ESSENTIA-2011-AGROSELVITER.pdf (dati Cooperativa erbe officinali pancalieri)

<http://www.aroundlabnews.com/it/wp-content/uploads/2013/08/Cromatografia-2-tlc.pdf>

<http://www.regione.piemonte.it/governo/bollettino/abbonati/2001/36/siste/00000009.htm>

<http://www.saporidelpiemonte.net/blog/prodotti-tipici-del-piemonte/olio-essenziale-di-menta-piperita-piemonte-o-pancalieri-piemonte/>

<http://www.myttex.net/forum/Thread-Mentile-Acetato>

FOGLI DI LAVORO

Si chiede ai vari gruppi di produrre i seguenti documenti:

- Scheda botanica della *Menha piperita* L. (semplificata: deve comunque contenere le seguenti informazioni:
 - Nome botanico
 - Tassonomia
 - Descrizione botanica (foglie e fiori)
 - Diffusione
 - Periodo balsamico
 - Parti utilizzate della pianta
 - Principi attivi
 - Tossicità/controindicazioni
- Riepilogo (formato libero) contenente la serie dei cromatogrammi sviluppati durante l'analisi del campione e del prodotto sintetizzato, corredato da una stima dei valori di R_f
- Schema del meccanismo di reazione per la reazione di sintesi dell'acetato di mentile