

RISG

LA RIVISTA ITALIANA DELLE

SOSTANZE GRASSE

6/2004

NOVEMBRE/DICEMBRE 2004
ANNO LXXXI

Consiglio di Amministrazione della Stazione Sperimentale Oli e Grassi

Presidente: Romano U.; **Membri:** Barbini N., Cosentino S., Dorato S., Ferrentino V., Fonda A., La Porta V., Lavagnini A., Manoukian A., Menotti A. M., Nahmias G., Papa G., Riva G., Salvatore G., Sardelli U., Spadon L., Surdi M.; **Collegio dei Revisori:** Cuzzoni A., Malandrino A. M., Russo Donato I.; **Segretario:** Cozzoli O.

Commissione tecnica per le industrie degli oli vegetali, grassi vegetali ed animali, delle proteine vegetali, degli oli minerali, dei colori e vernici, dei detergenti e tensioattivi, dei prodotti cosmetici e di igiene personale

Presidente: Cozzoli O.; **Membri:** Ascione P., Barolo B., Bernardini M., Bertani A., Blandini M. R., Borgogni C., Cane A. M., Carelli G., Carletti G., Carli M., Cecere E., Centi D., Cerato U., Collalto A., D'Agostinis G., Dalzero P. G., De Felici G., Diblasi A., Donati G., Fabietti F., Ferrari P., Ferrentino V., Fisci W., Fontanazza G., Frediani G., Fusari M., Giro L., Gorni R., Grieco D., Iobbi F., Leonardi M., Lercker G., Lucchi F., Marinelli G., Mattei A., Mazzesi P., Miraglia M., Misti D., Ostacoli G., Pellaschiar F., Petriglieri S., Pilloni C., Piras L., Pistolese P., Puglisi G., Renna M., Ruffo C., Salvatore G., Salvatori P., Seghesio A., Segre A. L., Serani A., Sisti L., Stanga F., Tiscornia E., Tondino M., Vaccaro A., Valtorta L., Ventura G., Vigo M., Zelinotti T.
Segretario: Camurati F. coadiuvato da: Fedrigucci M. G.
e-mail: ct@ssog.it

EDITORE, ABBONAMENTI

S.E.A. - Servizi Editoriali Associati srl
Via Adamo del Pero, 6 - 22100 Como
Tel. 031.243421
Fax 031.267750
e-mail: sea@seacom.com

PUBBLICITÀ

SEACOM srl - Via Adamo del Pero, 6 - 22100 Como
Tel. 031.243421
Fax 031.267750
e-mail: sea@seacom.com

STAMPA

Grafica Alta Brianza
Via C. Battisti, 2 Lambrugo - 22035 Como

DIRETTORE RESPONSABILE: **O. COZZOLI**

Segretaria di redazione: **A. FIORE**

RIVISTA UFFICIALE DELLA STAZIONE SPERIMENTALE PER LE INDUSTRIE DEGLI OLI E DEI GRASSI

COMMISSIONE TECNICA PER LE INDUSTRIE DEGLI OLI VEGETALI, GRASSI VEGETALI ED ANIMALI, DELLE PROTEINE VEGETALI, DEGLI OLI MINERALI, DEI COLORI E VERNICI, DEI DETERGENTI E TENSIOATTIVI, DEI PRODOTTI COSMETICI E DI IGIENE PERSONALE

COMITATO ITALIANO DEI DERIVATI TENSIOATTIVI

Sommario

P. Rovellini	335	Indice di qualità dell'olio extra vergine di oliva, antiossidanti naturali e stato di ossidazione
R. Romano, G. Lambiase, E. Scalzone, F. Addeo, L. Chianese, F. Masucci	342	La genuinità del grasso di latte di bufala: un'applicazione del Metodo Ufficiale UE (Precht) basato sulla determinazione gascromatografica dei trigliceridi
G. M. Cappelletti, G. M. Nicoletti, P. Scapicchio	347	Evoluzione normativa e qualità delle produzioni alimentari: il caso dell'olio extra vergine di oliva. Nota II
J. Brys, E. Gruczynska, B. Kowalski	359	The properties of mixtures of milkfat with vegetable oils after chemical interesterification
N. Ben Youssef, W. Taamalli, S. Ben Temime, D. Daoud, M. Zarrouk, M. H. Gorbali	364	Modifications induites par le cadmium au niveau de la croissance et des lipides de réserve des graines de colza (<i>Brassica napus</i> L.)
G. Romanowski, M. Lulei	371	The REACH process - Impact on surfactants
M. Bità, M. Preda	377	The effect of polyphenols from <i>Vitis vinifera</i> on the oxidation of coffee lipids
	381	Recensione di libri
	383	Congressi
	385	Indice dell'annata 2004

Autorizzazione del Tribunale di Milano 28.9.1948, N. 591
PUBBLICITÀ INFERIORE al 70%

DIREZIONE E REDAZIONE:

Via Giuseppe Colombo, 79 - 20133 Milano - Tel. 02.706497.1 - Fax 02.23.63.953
E-mail: rivista@ssog.it - internet: www.ssog.it

Abbonamenti 2004: annuo Italia € 90 - annuo estero € 190

Numero separato € 18 - Numero arretrato € 30

Questa rivista Le è stata inviata tramite abbonamento: l'indirizzo sarà utilizzato, oltre che per l'invio della rivista stessa, anche per l'inoltro di proposte di abbonamento o promozioni commerciali.

Ai sensi della legge 675/96 è nel suo diritto richiedere la cessazione dell'invio e/o l'aggiornamento dei dati in nostro possesso.

La genuinità del grasso del latte di bufala: un'applicazione del Metodo Ufficiale UE (Precht) basato sulla determinazione gascromatografica dei trigliceridi

R. ROMANO¹, G. LAMBIASE, E. SCALZONE, F. ADDEO, L. CHIANESE, F. MASUCCI²

1) DIPARTIMENTO DI SCIENZA DEGLI ALIMENTI - PORTICI (NA)

2) DIPARTIMENTO DI SCIENZE ZOOTECNICHE E ISPEZIONE DEGLI ALIMENTI - SEZIONE T. M. BETTINI - PORTICI (NA)

La determinazione gascromatografica della componente trigliceridica del latte di vacca riveste un ruolo fondamentale nella rivelazione dei grassi estranei. La metodica in vigore (metodo di Precht), pubblicata sulla Gazzetta Ufficiale delle Comunità Europee del 1 marzo 1995 L 46, prende in esame i trigliceridi a numero pari di atomi di carbonio per calcolare, tramite i cinque parametri "S", l'eventuale presenza di grassi estranei, sia vegetali che animali, nel grasso di latte vaccino e prodotti lattiero-caseari, mediante l'applicazione di equazioni derivanti da regressioni multiple e il confronto dei parametri ottenuti con limiti fissati ad un intervallo di confidenza del 99%. Gli obiettivi dello studio sono stati:

a) determinare i limiti di applicabilità del metodo UE nei confronti del grasso del latte di bufala (la cui composizione è paragonabile al grasso di latte di vacca)

b) proporre una modifica al metodo al fine di valutare la genuinità del grasso del latte di bufala

c) determinare il limite di sensibilità per aggiunte progressive di grassi non lattici al latte di bufala

La metodica ufficiale è stata applicata allo studio della composizione trigliceridica di 250 campioni di grasso estratto da latte di bufala, di sicura origine, proveniente da allevamenti della provincia di Caserta e Salerno.

Per la validazione del metodo di calcolo della genuinità del grasso sono stati utilizzati ulteriori 100 campioni. I risultati hanno evidenziato che è necessario apportare delle modifiche ai limiti delle formule indicate dalla metodologia di Precht per caratterizzare la genuinità del grasso di latte di bufala. Il metodo UE modificato messo a punto ha consentito di determinare aggiunte del 5% di grassi estranei non lattici al grasso di latte di bufala.

THE PURITY OF WATER BUFFALO MILK FAT: AN APPLICATION OF THE EU METHOD (PRECHT) BASED ON THE GAS CHROMATOGRAPHIC DETERMINATION OF TRIGLYCERIDES

Milk fat purity is presently evaluated by the gas chromatographic determination of triglycerides by the Official Method of the European Community. This method allows the detection of foreign fats, of both animal and vegetable origin, in milk fat. It is based on the determination of the triglycerides with even carbon number and on the subsequent application of formulae deriving from multiple linear regressions for the calculation of five "S" parameters. The results obtained by this calculation are compared to the limits fixed for a 99% confidence interval. The aims of this work were:

a) to determine the suitability of this method to water buffalo milk fat

b) to propose a modification to the method for evaluation of water buffalo milk fat purity

c) to determine the sensibility of the method for the detection of non lactic foreign fats in water buffalo milk

250 samples of water buffalo milk fat were extracted from milk of guaranteed origin. The water buffalo milk was kindly supplied by a livestock breeding factory in Caserta and Salerno. In order to validate this method, 100 samples were further utilized. The results show that it is necessary to modify the limits formula of Precht method to determine the purity of water buffalo milk fat. The modified UE method allows the detection of 5% non lactic foreign fat in water buffalo milk fat.

1. INTRODUZIONE

Per la determinazione del grasso di origine non lattica nel burro e nei formaggi, il metodo in vigore è basato sulla determinazione gascromatografica dei trigliceridi (Gazzetta Ufficiale delle Comunità Europee del 1 marzo 1995 [1]). La procedura messa a punto da Precht [2, 3] permette di rilevare, attraverso l'analisi gascromatografica dei trigliceridi a numero pari di atomi di carbonio, l'eventuale aggiunta di grassi estranei, sia vegetali che animali, al grasso vaccino mediante l'applicazione di equazioni derivanti da regressioni multiple, ed il confronto dei dati ottenuti con limiti prefissati ad un intervallo di confidenza del 99%. Il confronto tra i risultati analitici e i limiti proposti dalla legge, permette in breve tempo di identificare campioni sofisticati con grassi di origine diversa.

Negli ultimi anni si sta assistendo ad un aumento della produzione di burro diverso dal vaccino, in particolare burro di bufala, per il quale i dati di mercato evidenziano un trend crescente di vendite [4]. Per etichettare il burro proveniente dal grasso del latte di una sola specie è necessario disporre di metodi analitici idonei per la verifica di conformità del prodotto finito [3]. Il problema analitico riguarda anche l'accertamento della genuinità della materia prima utilizzata in produzione: crema dolce di centrifuga, crema acida estratta dal siero e/o acqua di filatura.

I metodi attualmente disponibili per la rilevazione di grasso di origine vegetale in miscela con il burro si basano sulla determinazione della concentrazione dei fitosteroli quali marcatori unici delle sostanze grasse vegetali [5].

Per la rilevazione di grassi estranei di origine animale viene valutata, normalmente, la composizione in trigliceridi

Corrispondenza: Dott. R. Romano, Dipartimento di Scienza degli Alimenti,
Via Università 100, 80055 Portici (NA) - Tel. 081.253.9348, e-mail: rafroman@unina.it

[6 - 8] ed in acidi grassi nonché il valore di rapporti caratteristici tra gli stessi acidi [9]. Dato che in letteratura non viene riportato un riferimento specifico per la determinazione della genuinità del grasso del latte di bufala si ritiene utile sulla base delle considerazioni descritte:

- 1) verificare l'applicazione del metodo ufficiale nel caso in cui il campione sia di origine bufalino (la cui composizione trigliceridica è simile al grasso lattico vaccino)
- 2) proporre un metodo di valutazione della genuinità del grasso del latte di bufala
- 3) verificare la sensibilità del metodo proposto per aggiunte di grassi estranei non lattici al grasso di latte di bufala

2. MATERIALI E METODI

Campionamento

350 campioni di latte di bufala di sicura origine sono stati prelevati regolarmente durante l'anno 2003 presso allevamenti della provincia di Caserta e Salerno.

Estrazione del grasso dal latte

40 ml di latte sono stati centrifugati a $3000 \times g$ per 15 min. Alla crema separata sono stati aggiunti nell'ordine e agitando: 10 ml di etanolo, 3 ml di soluzione di acido cloridrico al 25% e 10 ml di una miscela etere di etilico - *n*-eptano (2:1 v/v).

Dopo centrifugazione a $2000 \times g$ per 5 min, il surnatante è stato separato. La procedura di estrazione è stata ripetuta aggiungendo al campione soltanto la miscela etere di etilico - *n*-eptano. I due estratti sono stati riuniti e filtrati su solfato di sodio anidro. Successivamente il solvente è stato allontanato mediante evaporatore rotante. Per l'analisi gascromatografica è stata preparata una soluzione al 2% (m/v) di grasso in esano.

Determinazione gascromatografica dei trigliceridi

Secondo il metodo di riferimento UE, il riconoscimento del grasso estraneo, non lattico, viene ottenuto mediante analisi gascromatografica, su colonna impaccata, della componente trigliceridica del grasso estratto dal latte.

In precedenti lavori [10, 11] è stato dimostrato che utilizzando la colonna capillare in sostituzione della colonna impaccata e l'iniettore PTV in alternativa all'iniettore on-column si ottengono risultati comparabili e riproducibili con la metodica ufficiale [1]. La percentuale dei trigliceridi è stata calcolata seguendo e applicando lo stesso criterio di integrazione del metodo di Precht.

In breve, l'analisi gascromatografica del campione di grasso estratto deve essere condotta in modo tale da evitare l'innalzamento della linea di base in seguito al raggiungimento delle alte temperature a fine determinazione. Ciò può essere reso possibile mediante correzione della linea di base effettuando una prova del funzionamento del sistema di integrazione senza iniezione della soluzione di grasso e successiva sottrazione della linea di base registrata.

La valutazione dei picchi del cromatogramma deve essere ottenuta integrando i trigliceridi a numero dispari ($2n + 1$) con il trigliceride a numero pari precedente ($2n$). Per l'analisi gascromatografica, realizzata in un tempo di 10 min, sono stati utilizzati:

- gascromatografo GC Trace 2000 Thermo Finnigan equi-

Tabella I – Formule per il calcolo del parametro S

Formula totale
$-2,7575 \times C26 + 6,407 \times C28 + 5,5437 \times C30 - 15,3247 \times C32 + 6,26 \times C34 + 8,0108 \times C40 - 5,0336 \times C42 + 0,6356 \times C44 + 6,0171 \times C46 = S$
Formula per il lardo
$6,5125 \times C26 + 1,2052 \times C32 + 1,7336 \times C34 + 1,7557 \times C36 + 2,2325 \times C42 + 2,8006 \times C46 + 2,5432 \times C52 + 0,9892 \times C54 = S$
Formula per l'olio di palma e sego
$3,6644 \times C28 + 5,2297 \times C30 - 12,5073 \times C32 + 4,4285 \times C34 - 0,2010 \times C36 + 1,2791 \times C38 + 6,7433 \times C40 - 4,2714 \times C42 + 6,3739 \times C46 = S$
Formula per gli oli di soia, girasole, oliva, ravizzone, semi di lino, germe di grano, germe di granturco, cotone ed olio di pesce
$2,0983 \times C30 + 0,7288 \times C34 + 0,6927 \times C36 + 0,6353 \times C38 + 3,7452 \times C40 - 1,2929 \times C42 + 1,3544 \times C44 + 1,7013 \times C46 + 2,5283 \times C50 = S$
Formula per il grasso di cocco e di palmisto
$3,7553 \times C32 + 1,1134 \times C36 + 1,3648 \times C38 + 2,1544 \times C42 + 0,4273 \times C44 + 0,5809 \times C46 + 1,2926 \times C48 + 1,0306 \times C50 + 0,9953 \times C52 + 1,2396 \times C54 = S$

paggiato con: detector a ionizzazione di fiamma (FID) impostato a $360 \text{ }^\circ\text{C}$ con rapporto aria/idrogeno (300/30)

- vaporizzatore a temperatura programmata (PTV) in modalità split (450 ml/min)
- gas carrier He 13 ml/min
- colonna capillare RTX 65 TG (35% dimetil - 65% difenil polisilossano), 7,5 m, 0,25 mm ID, 0,10 μm di spessore di film di fase stazionaria

Le condizioni sperimentali utilizzate sono state:

- camera: temperatura iniziale $230 \text{ }^\circ\text{C}$ per 2 min, incremento di $20 \text{ }^\circ\text{C}/\text{min}$ fino a $350 \text{ }^\circ\text{C}$ per 7 min
- PTV: temperatura iniziale $60 \text{ }^\circ\text{C}$ per 6 sec, incremento di $500 \text{ }^\circ\text{C}/\text{min}$ fino a $370 \text{ }^\circ\text{C}$ per 5 min

Analisi quantitativa

L'analisi quantitativa è stata valutata seguendo la procedura dettata dal metodo ufficiale [1, 2]. In particolare, per la taratura, è necessario determinare il fattore di risposta dei trigliceridi mediante l'iniezione di una miscela di riferimento costituita da un campione naturale di burro anidro a composizione trigliceridica nota: BCR (Community Bureau of Reference) CRM 519. Dal rapporto tra il valore medio ottenuto dall'analisi di tre repliche del CRM 519 e la composizione fornita con lo stesso, si ricava il coefficiente di risposta di ogni trigliceride.

Per il calcolo della concentrazione trigliceridica corretta del campione di grasso in esame è necessario moltiplicare il valore percentuale trovato di ogni singolo trigliceride per il suo corrispondente coefficiente di risposta. Il risultato ottenuto per i singoli trigliceridi viene inserito in opportune formule (individuate da Precht) utilizzate per la rilevazione di grassi estranei, vegetali e animali, tramite le quali si ricava l'indice S (Tabella I).

In Tabella II sono evidenziati i limiti ufficiali corrispondenti alle cinque formule. Va specificato che, nel caso del latte di vacca, se uno solo dei valori di S cade al di fuori dell'in-

Tabella II - Limiti S per il grasso di latte di vacca [GU CE L46/11-23 (1995)]

Formula	Intervallo S
Totale	95,68 - 104,32
Lardo	97,96 - 102,04
Olio di palma e sego	95,90 - 104,10
Olio di semi di soia, girasole, oliva, ravizzone, semi di lino, germe di grano e granturco, olio di pesce e semi di cotone	98,05 - 101,95
Grasso di cocco e palmisto	99,42 - 100,58

Intervallo indicato è estremamente probabile che il campione sia adulterato.

Data la similitudine compositiva del grasso del latte di bufala con quello vaccino, è stata applicata la procedura UE ai campioni prelevati nel corso della sperimentazione.

In Figura 1 viene riportato un tipico tracciato gascromatografico di grasso di latte di bufala. I trigliceridi sono stati separati individuando anche il trigliceride a numero dispari di atomi di carbonio (sottopico). Il valore medio percentuale di tre ripetizioni analitiche dei trigliceridi da C26 a C54 atomi di carbonio è stato inserito nelle cinque formule riportate in tabella I in modo tale da ottenere i parametri S.

3. RISULTATI E DISCUSSIONE

Estrazione della frazione lipidica

Secondo la procedura ufficiale, l'estrazione del grasso dal latte deve avvenire in ambiente basico (per ammoniacale) utilizzando come miscela estraente etere di petrolio (Rose Gottlieb). Nelle nostre condizioni sperimentali l'estrazione della materia grassa dal latte di bufala è stata ottenuta mediante una miscela solvente costituita da etere di etilico - *n*-eptano (50/50) in ambiente acido per acido cloridrico. La scelta di adottare tale metodica, deriva dal fatto che i fenomeni di emulsione sono ridotti ed il tempo

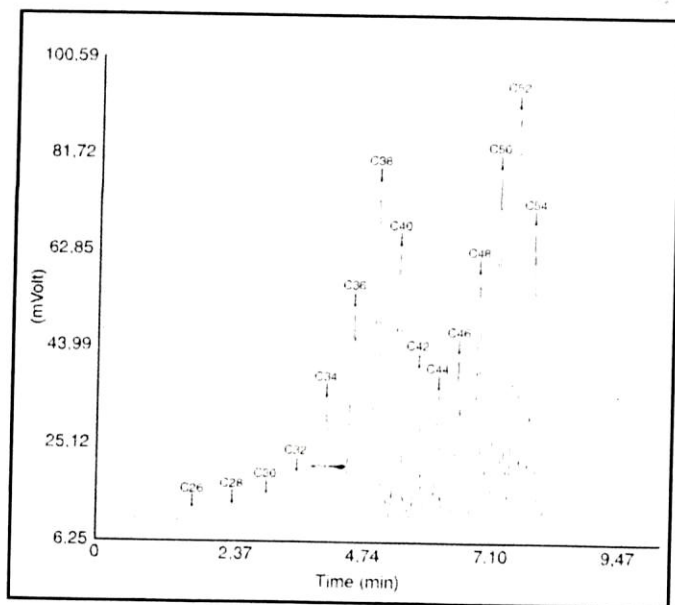


Figura 1 - Tracciato GC caratteristico dei TG analizzati con il metodo di Precht

Tabella III - Composizione trigliceridica media del grasso estratto in condizioni diverse

Trigliceride	Estrazione basica (%)	Estrazione acida (%)
C24	0,10 ± 0,01	0,11 ± 0,01
C26	0,27 ± 0,22	0,28 ± 0,02
C28	0,74 ± 0,03	0,74 ± 0,05
C30	1,20 ± 0,04	1,20 ± 0,08
C32	2,76 ± 0,04	2,75 ± 0,04
C34	7,53 ± 0,08	7,54 ± 0,08
C36	14,61 ± 0,18	14,61 ± 0,19
C38	15,51 ± 0,19	15,52 ± 0,22
C40	9,96 ± 0,08	9,94 ± 0,06
C42	5,92 ± 0,08	5,93 ± 0,06
C44	5,61 ± 0,06	5,62 ± 0,06
C46	6,62 ± 0,03	6,60 ± 0,06
C48	8,71 ± 0,03	8,69 ± 0,04
C50	9,53 ± 0,03	9,42 ± 0,04
C52	7,41 ± 0,08	7,43 ± 0,04
C54	3,02 ± 0,01	3,00 ± 0,03

di estrazione è risultato più rapido (sono stati necessari solo 2 cicli estrattivi).

Analizzando la frazione trigliceridica (Tabella III) non sono state riscontrate modifiche statisticamente significative nei confronti della composizione trigliceridica.

Variabilità della componente gliceridica del latte di bufala

Molti studi [12 - 16] sono stati effettuati sulla variabilità del grasso di latte di vacca; ridotte e poco aggiornate risultano le informazioni sulla variabilità della componente trigliceridica del latte di bufala. A tal proposito, sono stati prelevati campioni di latte di bufala (350) in diversi allevamenti della provincia di Caserta e Salerno.

In Tabella IV viene mostrata la composizione trigliceridica media del latte di bufala ottenuta in un anno di sperimentazione. È possibile osservare la variabilità della frazione lipidica nel corso delle diverse stagioni. In particolare, la concentrazione dei trigliceridi a basso e medio peso molecolare presenta un minimo in inverno e un massimo in primavera mentre i trigliceridi ad alto peso molecolare evidenziano un andamento opposto. In Figura 2 è stata messa a confronto la composizione media rilevata del grasso bufalino con la composizione del grasso di latte di vacca (BCR CRM 519). È possibile osservare una similitudine per le concentrazioni dei trigliceridi a basso e alto peso molecolare mentre tra i tri-

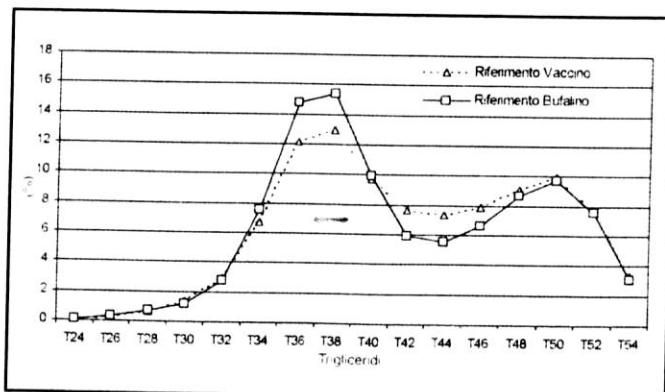


Figura 2 - Confronto tra grasso lattico vaccino e bufalino.

Tabella IV – Composizione trigliceridica media (\pm ds) del grasso di latte di bufala nelle quattro stagioni

Trigliceridi	Primavera (% \pm ds)	Estate (% \pm ds)	Autunno (% \pm ds)	Inverno (% \pm ds)	media	\pm ds
Colesterolo	0,23 \pm 0,02	0,21 \pm 0,01	0,17 \pm 0,01	0,19 \pm 0,01	0,20	0,02
C24	0,16 \pm 0,01	0,15 \pm 0,02	0,06 \pm 0,01	0,08 \pm 0,01	0,11	0,04
C26	0,32 \pm 0,03	0,32 \pm 0,05	0,26 \pm 0,04	0,25 \pm 0,05	0,28	0,03
C28	0,82 \pm 0,11	0,77 \pm 0,09	0,68 \pm 0,10	0,68 \pm 0,16	0,73	0,06
C30	1,34 \pm 0,15	1,22 \pm 0,14	1,13 \pm 0,15	1,12 \pm 0,29	1,20	0,09
C32	2,96 \pm 0,24	2,81 \pm 0,14	2,69 \pm 0,27	2,56 \pm 0,56	2,75	0,17
Totale basso P. M.	5,59	5,27	4,84	4,68	5,10	0,41
C34	7,88 \pm 0,34	7,89 \pm 0,54	7,40 \pm 0,36	6,99 \pm 1,03	7,54	0,45
C36	14,93 \pm 0,28	15,67 \pm 1,23	14,66 \pm 0,34	13,71 \pm 1,17	14,74	0,93
C38	15,10 \pm 0,18	16,34 \pm 0,65	15,54 \pm 0,39	14,72 \pm 0,35	15,42	0,84
C40	9,76 \pm 0,36	10,33 \pm 0,82	10,05 \pm 0,11	9,67 \pm 0,11	9,95	0,35
C42	6,20 \pm 0,49	5,77 \pm 0,47	5,95 \pm 0,41	5,94 \pm 0,68	5,96	0,20
C44	5,94 \pm 0,37	5,23 \pm 0,15	5,39 \pm 0,37	5,61 \pm 0,72	5,54	0,35
C46	7,08 \pm 0,32	6,19 \pm 0,18	6,52 \pm 0,28	6,92 \pm 0,49	6,67	0,47
C48	8,89 \pm 0,48	8,11 \pm 0,45	8,66 \pm 0,19	9,13 \pm 0,10	8,69	0,53
Totale medio P. M.	75,78	75,53	74,18	72,69	74,55	1,42
C50	9,40 \pm 0,68	9,24 \pm 0,51	9,90 \pm 0,52	10,28 \pm 0,97	9,70	0,50
C52	6,80 \pm 0,66	7,23 \pm 0,33	7,92 \pm 0,66	8,25 \pm 0,62	7,55	0,61
C54	2,59 \pm 0,25	2,89 \pm 0,57	3,30 \pm 0,25	3,40 \pm 0,23	3,04	0,34
Totale alto P. M.	18,79	19,37	21,13	21,93	20,30	1,47

gliceridi a medio peso molecolare appaiono delle differenze sostanziali. In particolare i trigliceridi da C34 a C40 del grasso lattico bufalino risultano in concentrazione maggiore rispetto al grasso lattico vaccino, mentre i trigliceridi da C42 a C48 presentano una concentrazione inferiore rispetto al grasso di latte di vacca.

Verifica del metodo di Precht applicato al grasso del latte di bufala

250 campioni di grasso di latte di bufala sono stati utilizzati per elaborare i nuovi parametri "S" i cui risultati sono stati riportati in Tabella V. Come si può notare i valori medi dei 5 parametri S, escluso quello ottenuto per la formula del lardo, si posizionano all'esterno dei limiti fissati dal metodo ufficiale [1]. Applicando la metodologia proposta da Precht, che ricordiamo è stata messa a punto per valutare la genuinità del grasso lattico vaccino, tutti i campioni di grasso di latte di bufala sono risultati come grasso vaccino sofisticato. È importante ribadire che se almeno uno dei valori di S è fuori dal limite indicato dal metodo, il campione è da considerarsi non genuino.

Inoltre, in Tabella V è possibile notare che l'applicazione della formula del cocco e palmisto da luogo a un valore dell'indice "S" fuori dai limiti nell'80% dei casi analizzati, mentre l'applicazione della formula palma - sego e totale ha dato luogo a indici "S" fuori dai limiti rispettivamente nel 78% e 76% dei casi analizzati.

Messa a punto di un metodo per la rilevazione di grassi non lattici nel grasso di latte di bufala

Inserendo la composizione trigliceridica corretta dei 250 campioni nelle 5 formule dettate dal metodo di Precht, è stato possibile calcolare nuovi indici "S_b". Considerando il valore minimo e massimo di ogni formula sono stati determinati gli intervalli per la caratterizzazione della genuinità del grasso lattico bufalino (tabella VI).

Risulta evidente che i limiti S_b individuati per la formula

Tabella V - Indici S per il grasso di latte di bufala

Formula	S (media \pm ds)	Intervallo UE (L. 46, 1995)	Campioni fuori limite (%)
Totale	113,32 \pm 6,08	95,68 - 104,32	76
Lardo	99,90 \pm 3,19	97,96 - 102,04	37
Olio di palma e sego	112,67 \pm 5,74	95,90 - 104,10	78
Olio di semi di soia, girasole, oliva, ravizzone, semi di lino, olio di pesce germe di grano e granturco, e semi di cotone	102,22 \pm 2,41	98,05 - 101,95	29
Grasso di cocco e palmisto	100,65 \pm 2,47	99,42 - 100,58	80

Tabella VI - Intervalli del parametro "S_b" per il grasso di latte di bufala

Formula	"S _b " (min - max)
Totale	107,93 - 118,70
Lardo	93,30 - 106,50
Olio di palma e sego	107,31 - 118,03
Olio di semi di soia, girasole, oliva, ravizzone, semi di lino, germe di grano e granturco, olio di pesce e semi di cotone	99,86 - 104,37
Grasso di cocco e palmisto	95,59 - 105,71

totale (107,93 - 118,70) e per la formula dell'olio di palma e sego (107,31 - 118,03) non si sovrappongono con gli equivalenti intervalli individuati dal metodo UE (rispettivamente 95,68 - 104,32; 95,90 - 104,10).

Al fine di valutare l'applicabilità degli intervalli S_b per la verifica della genuinità, sono stati analizzati ulteriori 100 campioni di grasso di latte di bufala di sicura provenienza. I rispettivi valori S_b calcolati per le 5 formule, utilizzando la procedura descritta, sono rientrati nei range riportati in tabella VI. I risultati ottenuti hanno confermato la validità dei limiti proposti.

Tabella VII - Formule trigliceridiche per la rilevazione di vari grassi estranei nel grasso di latte di bufala

<p>(B₁) Formula per olio di girasole, arachide, lino, sesamo e palma $-2,7575 \times C26 + 6,4077 \times C28 + 5,5437 \times C30 - 15,3247 \times C32 + 6,26 \times C34 + 8,0108 \times C40 - 5,0336 \times C42 + 0,6356 \times C44 + 6,0171 \times C46 = S_{B1}$</p> <p>107,93 < S_{B1} < 118,70 limite di rilevabilità 5%</p>
<p>(B₂) Formula per l'olio di cocco $3,6644 \times C28 + 5,2297 \times C30 - 12,5073 \times C32 + 4,4285 \times C34 - 0,2010 \times C36 + 1,2791 \times C38 + 6,7433 \times C40 - 4,2714 \times C42 + 6,3739 \times C46 = S_{B2}$</p> <p>107,31 < S_{B2} < 118,03 limite di rilevabilità 3%</p>
<p>(B₃) Formula per l'olio di oliva $2,0983 \times C30 + 0,7288 \times C34 + 0,6927 \times C36 + 0,6353 \times C38 + 3,7452 \times C40 - 1,2929 \times C42 + 1,3544 \times C44 + 1,7013 \times C46 + 2,5283 \times C50 = S_{B3}$</p> <p>99,86 < S_{B3} < 104,37 limite di rilevabilità 5%</p>
<p>(B₂) + (B₃) Formula per strutto</p> <p>107,31 < S_{B2} < 118,03 99,86 < S_{B3} < 104,37 limite di rilevabilità 5%</p>

Sensibilità del metodo

Una quantità nota dei 100 campioni di grasso di latte di bufala è stata prelevata per preparare una miscela T. La sensibilità del metodo proposto è stata valutata mediante aggiunte note di grassi non lattici alla miscela T. A tal proposito sono stati presi in considerazione i più comuni sofisticanti: olio di cocco, girasole, oliva, palma, arachide, sesamo, lino e strutto. Per ogni singolo grasso estraneo sono state preparate separatamente miscele a concentrazione percentuale pari a 1, 3, 5, 7, 10 (p/p) in T.

I dati ottenuti dall'analisi gascromatografica delle miscele sono stati utilizzati per il calcolo degli indici S_b. È importante sottolineare che delle 5 formule riportate in Tabella VI solo 3 sono risultate utili per l'identificazione dell'aggiunta di grassi estranei non lattici. In Tabella VII sono state riportate le formule specifiche ed efficaci per valutare la presenza - assenza dei grassi estranei non lattici nella miscela T.

- La formula B₁ (formula totale UE), è risultata utile per rilevare, con una sensibilità del 5%, aggiunte di olio di girasole, arachide, lino, palma e sesamo al grasso di latte di bufala
- La formula B₂ (formula per palma e sego UE), ha consentito di individuare aggiunte di olio di cocco, già ad una concentrazione del 3%
- La formula B₃ (formula soia ...), è risultata specifica per la rilevazione di olio di oliva per aggiunte superiori al 5%
- Per rilevare la presenza dello strutto, ad una concentrazione minima del 5%, è necessario che contemporaneamente le formule B₂ e B₃ diano i valori di S_b fuori dagli intervalli corrispondenti.

Si può affermare che un campione incognito di grasso di latte di bufala risulta genuino se i valori di S_b calcolati rientrano contemporaneamente nei limiti individuati dalle tre formule.

4. CONCLUSIONI

Nonostante la similitudine compositiva in trigliceridi tra il grasso di latte vaccino e bufalino, i dati ottenuti hanno messo in evidenza che il metodo ufficiale non risulta idoneo per determinare la genuinità del grasso del latte di bufala: su un totale di 250 campioni analizzati nessuno di questi è rientrato nei limiti prefissati del parametro S.

A tal proposito sono stati individuati per la genuinità del grasso del latte di bufala nuovi range del parametro S_b calcolati applicando le formule proposte dal metodo ufficiale.

Si potrebbe verificare un caso in cui un campione di grasso di latte vaccino sofisticato presenti l'indice S della formula totale e della formula olio di palma e sego fuori dai limiti UE. La probabilità che questo stesso campione presenti i due indici interni ai nuovi intervalli individuati per la genuinità del grasso di latte di bufala è pressoché nulla in quanto la rispettiva distanza tra i due intervalli risulta ampia.

È possibile inoltre concludere che applicando uno stesso metodo con limiti di riferimento differenti, si può, mediante un'unica determinazione, verificare la genuinità di un grasso lattico vaccino e/o bufalino.

La sensibilità degli intervalli proposti, valutata nei confronti di grassi estranei non lattici più comuni, eventualmente presenti nel grasso di latte di bufala, è stata del 5% per la rilevazione di strutto e di olio di girasole, oliva, arachide, lino, sesamo e palma e del 3% nel caso dell'olio di cocco. E' da sottolineare che il metodo proposto, allo stato attuale, non consente di individuare aggiunte di altri adulteranti del grasso di bufala, quali sego e grasso di latte vaccino.

BIBLIOGRAFIA

- [1] G. U. CE. L46/11-23 (1995).
- [2] D. PRECHT, Kieler. Milchw. Forsch., 43, 219-242 (1991)
- [3] M. COLLOMB, M. SPAHNI, T. BUHLER, Trav. Chim. Aliment. Hyg., 89, 59 - 83 (1998)
- [4] OSSERVATORIO LATTE - ISMEA, Rapporto 2003
- [5] G. NOTA, D. NAVIGLIO, R. ROMANO, D. LUONGO, Riv. Ital. Sostanze Grasse, 72, 78-85 (1995)
- [6] G. CONTARINI, R. LEARDI, C. PEZZI, P. M. TOPPINO, Riv. Ital. Sostanze Grasse, 70, 491-499 (1993)
- [7] M. LIPP, Food Chem., 55, 389-395 (1996)
- [8] M. LIPP, Food Chem., 54, 213-221 (1995)
- [9] G. LERCKER, N. FREGA, F. BOCCI, G. BERTACCO, Sci. e Tec. Latt.-Cas., 43, 95-110 (1992)
- [10] S. BANFI, M. BERGNA, M. POVOLO, G. CONTARINI, J. High Resolut. Cromatogr., 22, 93-96 (1999)
- [11] G. CONTARINI, G. BATTELLI, Riv. Ital. Sostanze Grasse, 52, 527-532 (1997)
- [12] C. TRIPALDI, G. CATTILLO, F. MARTILLOTTI, M. ANGELUCCI, Buffalo J., 1, 1-13 (1997)
- [13] G. BERTONI, F. PICCIOLI CAPPELLI, Inf. Agr. 18, 29-33 (1994)
- [14] G. PIVA, F. MASOERO, A. GRANDINI, G. FUSCONI, Sci. Tec. Latt.-Cas., 40, 158-165 (1989)
- [15] G. PIVA, G. FUSCONI, A. PRANDINI, E. CAPRI, Sci. Tec. Latt.-Cas., 44, 309-329 (1993)
- [16] D. PRECHT, J. VOIGHT, W. KANITZ, Eur. J. Lipid Sci. Tech., 103, 56-62 (2001)

Ricevuto 27-11-2003, accettato 30-09-2004