RAFFAELE ROMANO, ILARIA BORRIELLO, ANNAGIADA GRECO, SALVATORE SPAGNA MUSSO

EVOLUZIONE DELLA COMPONENTE LIPIDICA NEL PROCESSO DI LAVORAZIONE DEL FIORDILATTE APPENINO MERIDIONALE

Università degli Studi di Napoli "Federico II" - Dipartimento di Scienza degli Alimenti - Via Università 100 - 80055 Portici (NA)

INTRODUZIONE

La caratterizzazione della componente lipidica del latte rappresenta un momento essenziale per la valorizzazione dei prodotti , ciò è stato imposto, da un lato, dalla continua espansione del mercato dei prodotti lattiero-caseari, dall'altro, dal riconoscimento dell'importanza nutrizionale attribuita agli acidi grassi polinsaturi presenti nel latte. Il 97-98% del grasso presente nel latte è costituito da trigliceridi (TG), da piccole quantità di digliceridi (DG) e monogliceridi (MG) e da circa lo 0,1% di fosfolipidi; la restante parte, denominata insaponificabile, è costituita da sostanze liposolubili, come steroli (principalmente colesterolo 0,3%), alcoli e vitamine A, E, D e K (1). Gli acidi grassi ottenuti dall'idrolisi dei trigliceridi, invece, rappresentano oltre il 90% della frazione lipidica ed il loro livello quantitativo è caratterizzato da variabilità legata a fattori di natura genetica difficilmente modificabili ed a fattori ambientali come lo stadio di lattazione, lo stato fisico dell'animale e l'alimentazione(2). Non può poi essere trascurato l'aspetto nutrizionale della componente lipidica del latte dato dal contenuto in acidi grassi mono e polinsaturi essenziali, da una categoria definita "minore" tra cui ω-3 come EPA, DHA, DPA e CLA (Coniugated Linoleic Acid)(3)**,** acronimo con cui si intende un gruppo di composti contenenti una miscela di isomeri geometrici e posizionali dell'acido linoleico (C18:2ω-6), chimicamente inclusi nel gruppo degli acidi grassi trans (TFA) (c9-t11; t9-t11; t10-c12; t10-t12; e c9-c11 e t9-c11)(4)(5). Obiettivo del presente studio è stato quello di determinare, attraverso analisi gascromatografica con colonna capillare ad alta risoluzione (HRGC), l'evoluzione della composizione trigliceridica ed ed acidica minore del Fiordilatte Appenino Meridionale, durante il processo di lavorazione.

MATERIALI E METODI

Sono stati effettuati campionamenti da 1lt ognuno di:latte, siero, cagliata, acqua di filatura, Fiordilatte, per 20 lavorazioni di Fiordilatte Appennino Merdionale presso un'azienda del settore nel periodo Novembre-Aprile2005-2006. La frazione lipidica è stata estratta secondo il Metodo Schmidt-Bondzynsky-Ratzlaff, MIPAF (D.M. 21/4/1986). L'analisi gascromatografica dei trigliceridi è stata effettuata preparando una soluzione al 5% circa di

grasso anidro in esano ed iniettando 1,5 μl al gascromatografo DANI GC 1000 equipaggiato con vaporizzatore a temperatura programmata (PTV); rivelatore a ionizzazione di fiamma di idrogeno e colonna capillare lunga 30 m., 0,25 mm. ID, 0,10 μm df. RTX 65 TG (35% dimethyl- 65% diphenyl polysiloxane). Condizioni operative: PTV: temperatura iniziale 60°C per 0,1 min, incremento di 500°C/min. fino a 370°C per 5 min.Oven (camera): temperatura iniziale 250°C per 2 min., incremento di 6°C/min. fino a 360°C per 25 min. Rapporto di splittaggio: 1/60; Gas carrier: He, flusso 1,2 mL/min. La determinazione della componente acidica è stata eseguita mediante analisi degli esteri metilici degli acidi grassi previa trans-esterificazione effettuata con potassa metanolica (6). L'apparecchiatura utilizzata è stato un Gascromatografo Perkin Elmer mod. Auto System XL equipaggiato con vaporizzatore a temperatura programmata (PTV); rivelatore a ionizzazione di fiamma di idrogeno e colonna capillare lunga 100m, 0,25 mm ID; 0,20μm spessore film, fase stazionaria 50% Cyanopropil Methil Silicone mod. SP (Supelco Bellofonte, USA). Condizioni operative colonna: temperatura iniziale 100°C x 5 min., incremento di 3°C/min fino a 165°C dove sosta 10 min., incremento di 3°C/min. fino a 260°C x 28 min. PTV: 50°C x 0.1 min., incremento di 500°C/min. fino a 260°C dove sosta per 10 min. Rapporto di splittaggio:1/60 ml/min.Gas carrier: H, flusso 20cm/sec. Gas ausiliare:H. FID miscela aria/H 10:1.Temperatura del rivelatore FID: 260°C. L'identificazione dei picchi è stata effettuata mediante uno standard esterno (SupelcoTM 37 component FAME MIX). L'area percentuale di ciascun composto è stata quantificata con il metodo dello standard esterno calcolandone il fattore di correzione. I dati raccolti sono stati analizzati utilizzando il software SPSS 14.0. Tutte le variabili sottoposte ad elaborazione sono state analizzate con il test statistico dell'ANOVA univariata.

RISULTATI E DISCUSSIONE

L'analisi condotta sulla componente acidica del grasso vaccino mediante gascromatografia HRGC, ha permesso la separazione, l'identificazione e la quantificazione di 48 diversi acidi grassi che vanno dall'acido butirrico (C4) all'acido decosapentaenoico (DPA) (C22:5), di cui solo 13 presenti in quantità superiori all'1%. In figura 1 è riportato il confronto tra un cromatogramma tipico degli EMAG del grasso del latte vaccino e del fior di latte.

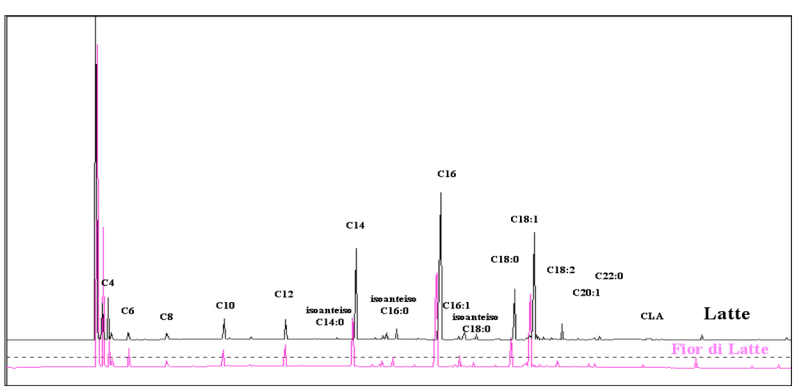

Fig. 1 - Confronto tra il profilo acidico del latte e del fior di latte.

Dall'analisi statistica dei dati è risultato che per quanto riguarda le variabili latte, siero, acqua di filatura, cagliata e fior di latte, la componente acidica è statisticamente differente sia tra i gruppi, che entro i gruppi. Il livello di significatività è espresso da un valore di $p<0,05$.

Tab. 1. Composizione (%) media dei CLA del latte e del fior di latte e variazione % rispetto al latte.

Acidi Grassi	latte %	fior dil latte %	variazione %
CLA (9c,11t; 7t,9c)	0,01	0,02	20,00
CLA (9t,11c; 10c,12t)	0,02	0,02	-9,09
CLA (10t, 12c)	0,02	0,02	-9,89
CLA (11t,13t)	0,02	0,02	-14,57
10t,12t; 9t,11t; 8t,10t; 7t,8t	0,02	0,03	42,04

Tab. 2. Composizione % Acidi grassi saturi-polinsaturi latte e fior di latte A,a indicano una differenza significativa entro la riga con $p<0,05$.

Acidi grassi	latte	fior di latte
C4:0	5,19^{a}	5,17^{a}
C6:0	2,44^{a}	2,43^{a}
C8:0	1,70^{a}	1,60^{a}
C10:0	3,78^{a}	3,68^{a}
C11:0	0,46^{a}	0,43^{a}
C12:0	4,52^{a}	4,28^{a}
C12:1	0,05	0,03
iso/anteiso C13:0	0,14^{a}	0,11^{a}
C13:0	0,12^{a}	0,12^{a}
iso/anteiso C14:0	0,045^{a}	0,58^{a}
C14:0	12,79^{a}	12,15^{a}
C14:1	0,38	0,26
anteiso C15:0	0,73^{a}	0,49^{a}
iso C15:0	0,80^{a}	0,96^{a}
C15:0	1,12^{a}	1,10^{a}
iso/anteiso C16:0	0,24^{a}	0,04^{a}
C15:1	0,01	0,22
C16:0	27,43^{a}	27,45^{a}
C16:1	1,79	1,78
iso/anteiso C17:0	0,12^{a}	0,19^{a}
C17:0	0,35^{a}	0,44^{a}
C17:1	0,19	0,09
iso/anteiso C18:0	0,20^{a}	0,19^{a}
C18:0	7,17^{a}	7,63^{a}
C18:1 t6,t9,t10,t11	1,28	1,32
C18:1 n9 cis	14,73	15,14
altri C18:1	0,85	0,93
altri C18:2	0,10^{A}	0,07^{A}
C18:2 (c9,c12)	1,75^{A}	1,71^{A}
C20:0	0,09^{a}	0,10^{a}
C18:3 n6	0,03^{A}	0,08^{A}
C18:3 n3	0,467^{A}	0,48^{A}
C20:1	0,35	0,41
CLA (9c,11t; 7t,9c)	0,01^{A}	0,02^{A}
CLA (9t,11c; 10c,12t)	0,02^{A}	0,02^{A}
CLA (10t, 12c)	0,02^{A}	0,02^{A}
CLA (11t,13t)	0,02^{A}	0,02^{A}
10t,12t; 9t,11t; 8t,10t; 7t,8t	0,02^{A}	0,03^{A}
C20:2	0,03^{A}	0,06^{A}
sommatoria CLA	0,04^{A}	0,04^{A}
C22:0	0,06^{a}	0,07^{a}
C20:3 n6	0,17^{A}	0,35^{A}
C20:3 n3	0,18^{A}	0,13^{A}
C20:4 n6	0,08^{A}	0,05^{A}
C23:0	0,07^{a}	0,04^{a}
EPA	0,03^{A}	0,04^{A}
C24:0	0,07^{a}	0,03^{a}
DPA	0,08^{A}	0,08^{A}

Osservando i valori medi degli acidi grassi del latte e del fior di latte, il gruppo dei CLA è quello che ha manifestato la maggiore variabilità (Tab. 1).
Dai confronti multipli, con un intervallo di confidenza pari al 95%, mettendo in rapporto tra loro gli acidi grassi saturi, monoinsaturi e polinsaturi e CLA, le variabili indipendenti, sottoposte al test LSD, Bonferroni, e Sidak hanno mostrato differenze significative in special modo tra i saturi e i polinsaturi con valore di $p<0,05$ (Tab. 2).
Confrontando i trigliceridi non sono state rilevate sostanziali variazioni; quelli a medio peso molecolare (da C34 a C42) sono più abbondanti nel latte rispetto al fior di latte (Tab. 3).

Tab. 3. Composizione trigliceridica(%) media del latte e del fior di latte.

TG	Latte	Fior di latte
24	0,05	0,07
26	0,20	0,26
28	0,63	0,73
30	2,07	1,17
32	3,09	2,92
LMW	6,05	5,15
34	5,95	7,43
36	10,73	10,92
38	12,53	12,95
40	9,96	9,82
42	6,87	7,45
MMW	46,05	48,57
44	6,45	6,40
46	7,29	7,15
48	9,21	9,17
50	11,04	11,00
52	10,46	10,50
54	1,67	2,11
HMW	46,13	46,33

CONCLUSIONI

Rispetto al latte, la componente acidica del fior di latte presenta un minor contenuto di acidi grassi a basso (Δ=2,69%) e medio peso molecolare (Δ=1,07%), ed una maggiore concentrazione di quelli ad alto peso molecolare (Δ=4,84%). Le variazioni maggiori rispetto al latte riguardano i CLA;rispettivamente del 20% per quanto riguarda i CLA (9c, 11t; 7t, 9c), e del 42% circa per i CLA (10t, 12t; 9t, 11t; 8t, 10t; 7t, 8t); per gli alti CLA si registrano variazioni circa del 10%. Lo studio della frazione trigliceridica ha permesso, di evidenziare la similitudine in composizione tra la cagliata e il prodotto finito. Nella frazione a basso peso molecolare, fatta eccezione per il C26 che aumenta nel fior di latte, gli altri trigliceridi (C28, C30 e C32) subiscono una diminuzione media nel prodotto finito e si concentrano maggiormente nel siero e acqua di filatura.

RINGRAZIAMENTI

Si ringrazia la ditta GREBUR s.r.l per la gentile collaborazione offerta.

BIBLIOGRAFIA

1) Jensen R. G., Newburg D. S. (1995). Bovine milk lipids. Handbook of Milk Composition. Ed. R. G. Jensen, Academic Press, San Diego (USA), 543-575.
2) Jiang J., Bjoerck L., Fonden R., Emanuelson M. (1996). Occurrence of Conjugated cis-9, trans-11- Octadecadienoic Acid in Bovine Milk: Effects of Feed and Dietary Regimen, J. Dairy Sci. 79, 438-445.
3) G. Nota, S. Spagna Musso, D. Naviglio, R. Romano,G. Improta: "Idrolisi rapida degli esteri degli steroli dei grassi". Rivista Italiana delle Sostanze Grasse. Vol. 7, 24-25. (1995).
4) R. Romano, G. Lambiase, S. Spagna Musso, L. Chianese. "La distribuzione quali-quantitativa della componente lipidica del latte indotta dal processo di lavorazione della Mozzarella di Bufala Campana". Progress in nutrition Vol.6 n°4, 275-284. (2004).
5) Kelly M.L., Berry J.R., Dwyer D.A., Griinari J.M., Chouinard P.Y., Van Amburgh M.E., Bauman D.E. (1998). Dietary Fatty Acid Sources Affect Conjugated Linoleic Acid Concentrations in Milk from Lactating Dairy Cows, J. Nutr. 128, 881-885.
6) Azain M.J., Hauseman D.B., Sisk M.B., Flatt W.P., Jewell D.E. (2000). Dietary conjugated linoleic acid reduces rat adipose tissue cell size rather than cell number. J. Nutr. 130, 1548-1554.
7) G. Bretoni: "Ambiente, alimentazione e qualità del latte". Supplemento all'Informatore Agrario 21/96. (1996).
8) M.A.McGuire, M.K. McGuire: "Coniugated linoleic acid (CLA): a ruminant fatty acid with beneficial effects on human health". Proceedings of the American Society of Animal Science, 1-8 (1999).

RIASSUNTO

La caratterizzazione della componente lipidica del latte rappresenta un momento essenziale per la valorizzazione dei prodotti. In particolare è essenziale valutare come i parametri di processo influenzino la composizione lipidica dei prodotti finiti. In quest'ottica la ricerca è stata effettuata sulla valutazione dell'evoluzione della componente lipidica dal latte al prodotto finito, e nei diversi intermedi di lavorazione (siero, cagliata ed acqua di filatura) del Fior di Latte Appennino Meridionale. Sono stati elaborati dal punto di vista quali-quantitativo, i profili acidici e trigliceridici del latte, del Fior di latte e degli intermedi di produzione attraverso analisi GC-FID HRGC. Lo studio del processo di trasformazione del latte ci ha permesso di evidenziare sostanziali differenze nella componente lipidica dei diversi intermedi di lavorazione in particolar modo nei confronti della composizione in acidi grassi.

SUMMARY

The characterization of milk lipid fraction is essential to valorise dairy products. It was important to analyse how processing parameters influenced dairy products. The aim of the research was the evaluation of the evolution of lipid composition from milk to dairy products

and on different processing intermediates (whey, curd, stretching water) of Fiordilatte Appenino Meridionale cheese. It was elaborated qualitative and quantitative fatty acids and triglycerides profile of milk, fior di latte cheese and of processing intermediates trough GC-Fid analysis with high resolution capillary coloumn. This study showed substantial differences on lipid composition between the processing intermediates particularly on fatty acids composition.