STUDIO DELLA COMPOSIZIONE IN CLA DELLA MOZZARELLA DI BUFALA CAMPANA

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

INTRODUZIONE

Ad oggi, la denominazione d'origine "Mozzarella di bufala" è riconosciuta al: "formaggio da tavola a pasta filata molle prodotto in alcuni comuni della Campania, del Lazio, della Puglia e del Molise, esclusivamente con latte di bufala intero fresco..."; "di colore bianco porcellanato con crosta sottilissima, superficie liscia e pasta di struttura a foglie sottili; sapore caratteristico e delicato; grasso sulla sostanza secca minimo 52% ed umidità massima del 65%" (1).

Il latte di bufala è l'unica materia prima utilizzabile per la preparazione delle mozzarelle, ha caratteristiche generali molto simili a quelle del latte vaccino ma se ne differenzia per una maggiore percentuale di componenti (2). I livelli quantitativi di grasso e proteine risultano in media rispettivamente del 7,5 e 4,4% nel latte bufalino e del 3,3 e 2,7% nel latte vaccino (3), inoltre recenti ricerche dimostrano che il latte bufalino contiene un numero maggiore e di minori dimensioni di globuli di grasso, indice di una maggiore presenza di acidi grassi polinsaturi (4).

Non può poi essere trascurato l'aspetto nutrizionale della componente lipidica del latte di bufala 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) (5), 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) (6) (7). Numerosi sono gli studi circa la sintesi dei CLA che si formano attraverso 2 vie metaboliche: bioisomerizzazione ruminale dell'acido linoleico per fermentazione batterica del Butyrivibrio fibrisolvens (8), ceppi di Lactobacillus, Propionbacterium, Bifidobacterium ed Enterococcus (9) e desaturazione dell'acido vaccenico (C18:1 t-11), proveniente dal rumine, nella ghiandola mammaria ad opera della Δ-9-desaturasi (10). Rappresenterebbero quindi degli intermedi della bioidrogenazione dell'acido linoleico ad acido stearico (11).

Diversi studi, hanno evidenziato la loro attività anticarcinogenica, antiaterogenica, antiobesità e antidiabetica e la loro capacità di stimolare le proprietà immunologiche (12). Le principali fonti alimentari di CLA nella dieta dell'uomo sono i prodotti di origine animale come latte e carne ma il loro contenuto negli alimenti dipende da molteplici fattori: composizione alimentare (11), contenuto in PUFA, regime alimentare (13), stagionatura dei formaggi, tipo di alimentazione (14), concentrazione dei TG ad alto PM (3).

Precedenti lavori bibliografici evidenziano che questa frazione acidica minore (CLA,

acidi grassi dispari, forme iso/anteiso, acidi grassi polinsaturi con un numero di atomi di carbonio superiori o uguale a 20) è scarsamente identificata e che notizie in merito alla composizione e caratterizzazione del grasso della Mozzarella di Bufala sono ridotte e poco aggiornate, pertanto ci si è posti il problema della sua determinazione quali-quantitativa. Obiettivo del presente studio è stato: determinare, attraverso analisi gascromatografica con colonna capillare ad alta risoluzione (HRGC), la componente acidica minore della Mozzarella di Bufala Campana ed in particolare valutare la distribuzione degli isomeri coniugati dell'acido linoleico.

MATERIALI E METODI

Sono stati prelevati dal commercio 100 campioni di Mozzarella di Bufala Campana e ne è stata estratta la frazione lipidica secondo il Metodo ufficiale di analisi per i formaggi (D.M. 21 Aprile 1986). La determinazione della componente acidica è stata eseguita mediante analisi degli esteri metilici degli acidi grassi previa trans-esterificazione effettuata con potassa metanolica (15). La procedura ha previsto la preparazione di una soluzione di grasso in esano al 5%. Ad 1 mL di campione sono stati aggiunti 300 µL di potassa metanolica 2N. Dopo agitazione su Vortex è stato prelevato 1 µL dalla fase superiore per l'analisi gas-cromatografica ad alta risoluzione. 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 100 m, 0,25 mm ID; 0,20 µm 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 20 cm/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) e confronto dei tempi di ritenzione con dati di letteratura. L'area percentuale di ciascun composto è stata quantificata con il metodo dello standard esterno calcolandone il fattore di correzione.

RISULTATI E DISCUSSIONI

In fig. 1 è stato riportato un tipico gascromatogramma degli acidi grassi.

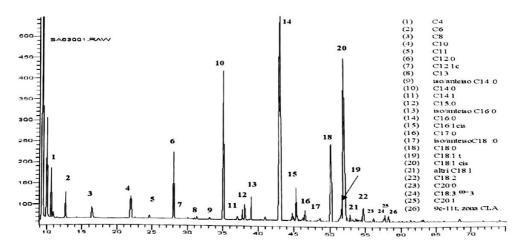


Fig. 1 - Gascromatogramma degli esteri metilici della Mozzarella di Bufala Campana.

Sono stati identificati 44 diversi composti: dall'acido butirrico (C4:0) all'acido docosapentaenoico (DPA) (C22:5), compresi otto isomeri dell'acido linoleico coniugato (CLA) di cui due non identificati. In tabella 1 vengono riportati i valori medi degli acidi grassi identificati.

Tabella 1 - Componente acidica della Mozzarella di Bufala Campana

EMAG	M edia%	EMAG	M edia%	EMAG	Media%
C4:0	2,80	X,	0,23	11t-13t	0,01
C6:0	1,50	X ₆	0,61	10t-12t, 9t-11t, 8t-10t, 7t-9t	0,04
C8:0	1,15	C16:1cis	2,45	X ₁ CLA	0,01
C10:0	2,28	C17:0	0,63	C20:2	0,04
C11:0	0,18	iso/anteisoC18:0	0,38	X, CLA	0,04
C12:0	3,22	C18:0	10,08	C22:0	0,08
X,	0,02	C18:1(t6,t9,t10,t11)	1,85	C20:3n6	0,07
C12:1	0,04	C18:1n-9cis	17,82	X_s	0,02
iso/anteiso C13:0	0,08	Altri C18:1	1,13	X_{9}	0,03
Χ,	0,06	Altri C18:2(isolati)	0,60	C20:3n3	0,15
C13:0	0,12	C18:2 9c,12c	1,91	C20:4n6	0,07
iso/anteiso C14:0	0,19	C20:0	0,20	X 10	0,03
C14:0	12,26	C18:3 n6	0,02	C23:0	0,03
X3	0,04	C18:3 n3	0,15	C20:5n3	0,03
C14:1	0,39	C20:1	0,48	C24:0	0,05
X_4	0,63	CLA (9c-11)	0,75	X ₁₁	0,12
anteiso C15:0	0,89	CLA (9t-11c;7t-9c)	0,01	X ₁₂	0,05
C15:0	1,34	10c-12t	0,08	X 13	0,03
iso C16:0	0,29	CLA (11t-13c;9c-11c)	0,01	X 14	0,03
C16:0	24,71			C22:5	0,06

Gli acidi grassi a medio peso molecolare dal C11:0 al C16:1 cis sono risultati più abbondanti (47,8% circa). Tra i saturi (63% circa del totale), il più rappresentativo è risultato l'acido palmitico (C16:O) con il 24,7%.

Tra gli insaturi (29,4% circa del totale), l'oleico corrisponde al 18% circa.

Gli isomeri coniugati dell'acido linoleico (CLA) sono stati valutati intorno all'1% sul totale degli acidi grassi identificati.

In fig. 2, è possibile osservare un tipico gascromatogramma di esteri metilici degli acidi grassi (EMAG) della Mozzarella di Bufala Campana relativo alla zona dei CLA.

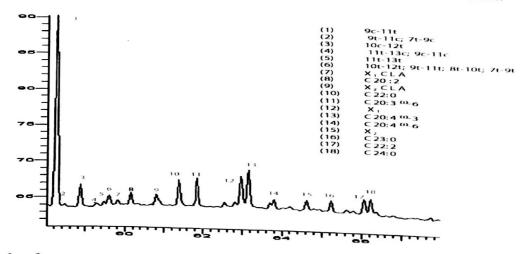


Fig. 2 - Gascromatogramma relativo alla zona della componente acidica minore della Mozzarella di Bufala Campana.

Tra questi: 9c-11t; 9t-11c; 7t-9c; 10c-12t; 11t-13c; 9c-11c; 11t-13t; 10t-12t; 9t-11t; 8t-10t; 7t-9t; X₁CLA; X₂CLA, il più rappresentativo è risultato l'isomero 9c-11t (0,74%) seguito dall'isomero 10c-12t (0,08%). Per una più semplice interpretazione dei risultati si sono confrontate le mozzarelle invernali con quelle estive e le primaverili con le autunnali. È stato possibile osservare che il contenuto totale di CLA è rispettivamente più elevato nel prodotto estivo e nella mozzarella autunnale (fig. 3). Come riportato in letteratura, sembra siano sostanzialmente inferiori nella stagione invernale, quando l'animale è alimentato in stalla con foraggi conservati, rispetto all'estate, quando è tenuto al pascolo (16). Più dettagliatamente, in tab. 2 sono stati riportati i valori medi stagionali degli isomeri dei CLA delle mozzarelle prelevate nel corso dell'anno. Tra gli isomeri individuati il più rappresentativo è risultato il 9c-11t CLA che variava tra lo 0,72 e lo 0,74%.

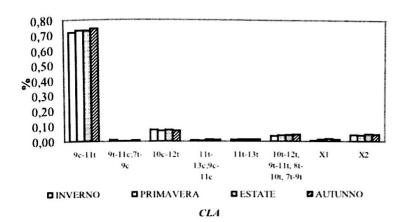


Fig. 3 - Distribuzione stagionale degli isomeri dell'acido linoleico (CLA) nella Mozzarella di Bufala Campana.

Tabella 2 - Valori medi stagionali degli isomeri dei CLA nelle Mozzarelle di Bufala Campana.

Acidi grassi	INVERNO	PRIMAVERA	ESTATE	AUTUNNO	Valore medio	
	media %					
CLA (9c-11t)	0,72	0,73	0,73	0,74	0,74	
CLA (9t-11c;7t-9c)	0,01	0	0	0,01	0,01	
CLA (10c-12t)	0,08	0,07	0,08	0,07	0,08	
CLA (11t-13c;9c-11c)	0,01	0	0,01	0,01	0,01	
CLA (11t-13t)	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	
10t-12t, 9t-11t, 8t-10t, 7t-9t	0,04	0,04	0,04	0,05	0,04	
X1 CLA	0,01	0,01	0,02	0,01	0,01	
X2 CLA	0,04	0,04	0,05	0,04	0,04	
ΣCLA	0,91	0,92	0,94	0,95		

CONCLUSIONI

La sperimentazione condotta sulla Mozzarella di Bufala Campana utilizzando la gascromatografia ad alta risoluzione con colonna capillare da 100 m, ha permesso di identificare 44 acidi grassi molti dei quali (acidi grassi dispari, forme iso/anteiso, isomeri coniugati dell'acido linoleico, acidi insaturi con un numero di atomi di carbonio superiore a 20) presenti in tracce. Per quanto riguarda gli isomeri dell'acido linoleico (CLA 0,94% circa sul totale degli acidi grassi), il contenuto totale è risultato essere rispettivamente più

elevato nelle mozzarelle estive e autunnali. In particolare il più rappresentativo è risultato il 9c-11t CLA variando tra lo 0,72% e lo 0,74%.

BIBLIOGRAFIA

- (1) Decreto ministeriale 18 settembre 2003.
- (2) L. Zicarelli. Scienza e Tecnica Lattiero-Casearia, 55, 167-168, (2004).
- (3) R. Romano, G. Lambiase, S. Spagna Musso, L. Chianese. "La distribuzione qualiquantitativa 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).
- (4) M. Martini, S. Spinelli, C. Scolozzi, F. Cecchi: "Studio delle caratteristiche lipidiche del latte di bufale allevate in Toscana: nota II". Atti II Congresso nazionale sull'allevamento del bufalo, 28-30 agosto, 147-151, (2003).
- (5) G. Bretoni: "Ambiente, alimentazione e qualità del latte". Supplemento all'Informatore Agrario 21/96, (1996).
- (6) S. Fritsche, J. Fritsche: "Occurrence of CLA isomers in beef". Journal of the American Oil Chemists Society 75(10):1449-51, (1998).
- (7) B. Mulvihill: "Ruminant meat as a source of conjugated linoleic acid (CLA)". British Nutrition Foundation. 26, 295-299, (2001).
- (8) C.R. Kepler, S.B. Tove: "Biohydrogenation of linoleic acids. III. Purufucation and propriets of a linoleate $\Delta 12$ cis, $\Delta 11$ -trans isomerase from butyrivibrio fibrisolves". Journal of Biological Chemistry, 242, 5686-5692, (1967).
- (9) M. Collomb, H. Sollberg, U. Butikofer, R. Sieber, W. Stoll, W. Schaeren: "Impact of basal diet of hay and fodder beet supplemented with rapeseed, linseed nd sunflowerseed on the fatty acid composition of milk fat". International Dairy Journal. 14, 549-559, (2004).
- (10) Mary E. Evans, Jonathon M. Brown, Micheal K. McIntosh "Isomer-specific effects of conjugated linoleic acid (CLA) on adiposity and lipid metabolism", (2002).
- (11) J.M. Griinari, D.E. Barman: "Biosynthesis of conjugated linoleic acid and its incorporation into meat and milk ruminants", (1998).
- (12) 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).
- (13) F.D. Saurer, V. Fellner, R. Kinsman, J.K.G. Kremer, H.A. Jackson, A.J. Lee, S. Chen: "Methane Output and Lactation Response in Holstein Cattle whit Monensin or Unsaturated to the Diet". J. Anim. SCI. pagg. 906-914, (1998).
- (14) T.R. Dhiman, G.R. Anamd, L.D. Satter, M.W. Pariza: "Conjugated linoleic acid of milk from cows fed different diets". Journal of Dairy Science, 82, 2146-2156, (1999).
- (15) 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).
- (16) S.L. White, J.A. Bertrand, M.R. Wade, S.P. Washburn, J.T. Green, T.C. Jenkins: "Comparison of fatty acid content of milk from jersey and Holstein cows consuming pasture or a total mixed ration". Journal of Dairy Sci., 84, 2295-2301, (2001).

RIASSUNTO

Negli ultimi anni si sta assistendo ad un'espansione dei prodotti lattiero-caseari derivanti dal latte di bufala tra cui, principalmente, la Mozzarella di Bufala Campana. Data l'importanza nutrizionale attribuita ai costituenti del grasso bufalino, la frazione lipidica della Mozzarella di Bufala è al centro di indagini volte a caratterizzarne la "minore" (CLA, EPA, DHA, DPA) che sembra avere importanti proprietà fisiologico-ad alta risoluzione (HRGC), la componente acidica minore della Mozzarella di Bufala Campana ed in particolare la distribuzione degli isomeri coniugati dell'acido linoleico. da solo circa l'80% dei CLA totali.

SUMMARY

CLA COMPOSITION OF "MOZZARELLA DI BUFALA CAMPANA"

In the last years it is being assisted to expansion of the dairy buffalo products among which, mainly, "Mozzarella di Bufala Campana". For nutritional importance of constituent of buffalo fat, lipidic fraction of the "Mozzarella di Bufala Campana" is to the centre of several study to characterize the acidic composition. Among fatty acids identifies evidences a defined "minor" category (CLA, EPA, DHA, DPA) that it seems to have important physiological-nutritional property. Objective of this study has been: to determine "minor" acidic fraction of the "Mozzarella di Bufala Campana" by high resolution gascromatografy (HRGC), and particulary the distribution of Coniugated Linoleic Acid isomers. From the study it is emerged that 9c-11t isomer is more abundant (0.74%), approximately 80% of the CLA totals.