



**Società Chimica Italiana**  
**Gruppo Interdivisionale di Chimica degli Alimenti**  
**Università degli Studi di Parma**

# ***QUALITA' E SICUREZZA DEGLI ALIMENTI***

**V CONGRESSO NAZIONALE DI CHIMICA DEGLI ALIMENTI**

## **ATTI**



**Camera di Commercio Industria, Artigianato e Agricoltura di Parma**  
**Parma, 9-12 giugno 2003**

## VALUTAZIONE CHIMICO-NUTRIZIONALE DELLA FRAZIONE LIPIDICA DEL FORMAGGIO: IL CASO DELL'"OSSOLANO"

*Zeppa Giuseppe, Giordano Manuela, Gerbi Vincenzo, Coïsson Jean Daniel<sup>a</sup>, Travaglia Fabiano<sup>a</sup>, Arlorio Marco<sup>a</sup>*

*Dipartimento di Valorizzazione e Protezione delle Risorse Agroforestali (DiVaPRA) - Università degli Studi di Torino - Via L. da Vinci 44 - 10095 Grugliasco (TO)*

*<sup>a</sup> Dipartimento di Scienze Chimiche, Alimentari, Farmaceutiche e Farmacologiche (DiSCAFF) - Università del Piemonte Orientale - Viale Ferrucci 33 - 28100 Novara*

I lipidi costituiscono una classe di composti molto importante nella nutrizione umana, esplicando funzioni indispensabili per la vita.

Le moderne linee guida per una sana alimentazione raccomandano però di ridurre il consumo dei grassi di origine animale, soprattutto se ricchi di acidi grassi saturi, in relazione al loro ormai ampiamente dimostrato effetto ipercolesterolemico. È necessario però ricordare che in questi grassi sono presenti anche acidi grassi insaturi che non solo modulano il colesterolo del sangue riducendolo, ma, in alcuni casi, possono avere anche effetti antitumorali. Poiché gli acidi grassi a lunga catena presenti nel latte e nei suoi derivati provengono in buona parte dagli alimenti somministrati all'animale, è evidente che la dieta può modificarne le rispettive concentrazioni.

Molti autori hanno così evidenziato come il pascolamento o l'alimentazione delle vacche con foraggi verdi determini un aumento degli acidi grassi insaturi a lunga catena ed una riduzione di quelli saturi a corta catena. Questo effetto è particolarmente evidente nei formaggi 'di alpeggio' a causa del prolungato pascolamento di essenze vegetali diverse.

Lo scopo di questo lavoro è stato quindi quello di verificare se anche per il formaggio 'Ossolano', uno dei più rinomati formaggi piemontesi (noto anche con l'appellativo di Bettelmatt) prodotto da latte crudo nelle Valli dell'Ossola (Nord Piemonte) fosse possibile evidenziare una differenza fra il prodotto di alpeggio e quello di fondovalle a livello di contenuto in acidi grassi.

È stata pertanto determinata mediante GC-MS la composizione in acidi grassi di 66 campioni di 'Ossolano' di cui 24 prodotti durante il periodo estivo in alpeggio a quote variabili tra i 1500 ed i 2200 m s.l.m. e 42 prodotti durante il periodo invernale in aziende di fondovalle (500-800 m s.l.m.).

A causa della diversa alimentazione degli animali gli acidi grassi a lunga catena mono- e poli-insaturi sono risultati essere significativamente più abbondanti nei formaggi estivi, mentre gli acidi saturi a media e corta catena sono risultati più abbondanti nei formaggi invernali. Il rapporto fra gli acidi saturi ed insaturi è risultato quindi minore nei formaggi estivi che in quelli invernali. Di particolare interesse nutrizionale infine è anche l'elevata concentrazione nei formaggi estivi di acidi linoleici coniugati (CLA) e di acidi  $\omega$ -3 ed  $\omega$ -6.

## VALUTAZIONE CHIMICO-NUTRIZIONALE DELLA FRAZIONE LIPIDICA DEL FORMAGGIO: IL CASO DELL' "OSSOLANO"

G. Zeppa, M. Giordano, V. Gerbi, J. D. Coïsson<sup>1</sup>, F. Travaglia<sup>1</sup>, M. Arlorio<sup>1</sup>

Dipartimento di Valorizzazione e Protezione delle Risorse Agroforestali (DiVaPRA) - Università degli Studi di Torino - Via L. da Vinci 44 - 10095 Grugliasco (TO)

<sup>1</sup>Dipartimento di Scienze Chimiche, Alimentari, Farmaceutiche e Farmacologiche (DiSCAFF) - Università del Piemonte Orientale - Viale Ferrucci 33 - 28100 Novara

### Riassunto

Chemical-nutritional evaluation of fatty acid composition of cheese: the Ossolano cheese  
Fatty acid composition of 66 samples of 'Ossolano', a typical semi-hard cheese produced from raw cow milk in the Ossola valley (North Piedmont, West Italy) was determined. Seasonal variation in feeding condition are responsible for the observed variations in fatty acid composition of samples. Long-chain mono- and poly-unsaturated fatty acids were more abundant in the summer cheeses while short and medium chain saturated fatty acids were higher in winter products. Conjugated linoleic acids and n-3 acids were instead higher in summer cheeses according to the results of many authors. The n-6/n-3 ratio is lower in the summer products with an interesting nutritional effect due to the essential role of n-3 polyunsaturated fatty acid in human health.

**KEY WORD** : fatty acid, conjugated linoleic acid, Ossolano cheese

### Introduzione

I lipidi costituiscono una classe di composti molto importante nella nutrizione umana, esplicando funzioni indispensabili per la vita.

Le moderne linee guida per una sana alimentazione raccomandano però di ridurre il consumo dei grassi di origine animale, soprattutto se ricchi di acidi grassi saturi, in relazione al loro ormai ampiamente dimostrato effetto ipercolesterolemico. È necessario però ricordare che in questi grassi sono presenti anche acidi grassi insaturi fra cui spiccano soprattutto gli acidi linoleici coniugati o CLA che non solo modulano il colesterolo del sangue riducendolo, ma, in alcuni casi, possono avere anche effetti antitumorali, anti-aterosclerotici ed anti-diabetici (Hill, 1987; Ha et al., 1989; Parodi, 1994; Jahreis et al., 1999; Hubbard et al., 2000; Martin, 2001; Mougios et al., 2001; Banni et al., 2002; Evans et al., 2002). I CLA rappresentano una classe di acidi grassi derivati dall'acido linoleico; sono in teoria possibili 24 isomeri posizionali e geometrici di questo acido contenenti doppi legami nelle posizioni 7,9; 8,10; 9,11; 10,12; 11,13 e 12,14. Ciascun CLA può inoltre esistere nelle configurazioni cis/cis, trans/trans, cis/trans e trans/cis. Il CLA predominante nel latte è l'acido cis-9,trans-11-octadecadienoico inequivocabilmente dimostrato come un potente anticancerogeno.

I CLA sono prodotti a livello ruminale dal *Butyrivibrio fibrisolvens*, che isomerizza l'acido linoleico. Un'altra possibile via di formazione di CLA nei ruminanti è l'azione della Delta 9-desaturasi sull'acido trans-11 octadecanoico. Recenti dati di letteratura riportano la composizione media in CLA nei formaggi in un range variabile da 3.6 a 8.0 mg g<sup>-1</sup> di materia grassa (Jiang et al., 1997).

Poiché gli acidi grassi a lunga catena presenti nel latte e nei suoi derivati provengono in buona parte dagli alimenti somministrati all'animale, è evidente che la dieta può modificarne le rispettive concentrazioni (Brun Bellut et al., 1985; Grummer, 1991; Jiang et al., 1996; Collomb et al., 1999; Chilliard et al., 2000; ). Molti autori hanno così evidenziato come il pascolamento o l'alimentazione delle vacche con foraggi verdi determini un aumento degli acidi grassi insaturi a lunga catena ed una riduzione di quelli saturi a corta catena (Brun Bellut, 1985; Kelly et al., 1998; Innocenti et al., 2002). Questo effetto è particolarmente evidente nei formaggi 'di alpeggio' a causa del prolungato pascolamento di essenze vegetali diverse, ma gli studi su questi prodotti sono molto scarsi (Collomb et al., 1999; Bugaud et al., 2001a; Bugaud et al., 2001b).

Lo scopo di questo lavoro è stato quindi quello di verificare se anche per il formaggio 'Ossolano', uno dei più rinomati formaggi piemontesi (noto anche con l'appellativo di Bettelmatt) e prodotto da latte crudo nelle Valli dell'Ossola (Nord Piemonte) fosse possibile evidenziare a livello di contenuto in acidi grassi una differenza fra il prodotto estivo di alpeggio e quello invernale di fondovalle.

### Materiali e Metodi

#### Campioni

L'Ossolano è un formaggio semi-duro prodotto con latte crudo proveniente da bovine di razza Bruna Alpina. Viene prodotto nel Nord del Piemonte, nelle vallate dell'Ossola, al confine con la Svizzera. La caseificazione viene effettuata su latte crudo, coagulato senza l'aggiunta di starter a 34-37 °C per aggiunta di caglio bovino. La cagliata è rotta abbastanza finemente (grumi di 3-4 mm) e quindi riscaldata a 45-48 °C per un periodo di 40-45 min. Segue un ulteriore periodo di agitazione di circa 40 min. La cagliata viene quindi estratta, posta in fascere e pressata per almeno 24 ore. Il formaggio viene quindi estratto dalle fascere, salato a secco per 48 ore e posto a stagionare in locali a 8-12 °C ed umidità dell'80-90%.

L'indagine è stata condotta su 66 campioni di formaggio di cui 24 provenienti da sette alpeggi posti fra i 1500 m ed i 2200 m e 42 provenienti dalla produzione invernale di sei aziende agricole di fondovalle. Ogni campione è stato prelevato da una forma con 60 giorni di stagionatura.

#### Analisi chimica

Gli esteri metilici degli acidi grassi sono stati preparati per trans-esterificazione con idrossido di potassio secondo quanto previsto dalla ISO 5509:2000E ed analizzati con un gas-cromatografo Varian 3400 (Varian Assoc. Inc., Walnut Creek, CA, USA) equipaggiato con una colonna capillare DB-WAX (30 m; 0.25 mm ID; spessore della fase 0.25 µm; J&W Scientific Inc., Folsom, CA, USA), un iniettore split-splitless (split 1:60) ed un rivelatore FID. L'iniettore ed il rivelatore erano mantenuti a 250 °C. Come carrier-gas è stato utilizzato elio (1 mL·min<sup>-1</sup>). La programmata di temperatura è stata la seguente: temperatura iniziale 35 °C per 5 min, quindi 2 °C·min<sup>-1</sup> sino a 220 °C e sosta per 5 min. Ogni campione è stato analizzato in doppio.

### Risultati

La composizione in acidi grassi aventi un numero di atomi di carbonio compreso fra 4 e 20 è riportata in Tabella 1.

A causa della differente composizione della dieta gli acidi grassi saturi a corta (C<sub>4</sub>, C<sub>6</sub>, C<sub>8</sub>) e media catena (C<sub>10</sub>, C<sub>12</sub>, C<sub>14</sub> e C<sub>16</sub>) risultano significativamente più abbondanti nei formaggi di fondovalle mentre lo stearico (C<sub>18:0</sub>) e l'arachidico (C<sub>20:0</sub>) sono più abbondanti in quelli di alpeggio confermando i risultati ottenuti da altri Autori (Brun Bellut et al., 1985; Collomb et al., 1999; Bugaud et al., 2001a; ).

Gli acidi mono- e poli-insaturi a lunga catena (C<sub>18:1</sub>, C<sub>18:2</sub>, C<sub>18:3</sub>) sono invece significativamente più abbondanti nei prodotti di alpeggio. Particolarmente importanti per i loro effetti nutrizionali sono gli acidi linoleici coniugati (CLA) riportati in tabella mantenendo separati l'acido cis-9, trans-11 linoleico o acido rumenico (il più importante dal punto di vista nutrizionale) e la somma degli altri isomeri posizionali e geometrici incluso l'acido cis-9, trans-12/trans-9, cis-12-linoleico.

Nei prodotti di montagna il contenuto di tutti i CLA ed in particolare del c-9, trans-11-C<sub>18:2</sub> ritenuto essere l'isomero con la maggiore attività biologica è significativamente più elevato che nei prodotti di fondovalle. L'acido rumenico deve la sua importanza al fatto di essere l'unico isomero ad essere incorporato nella frazione fosfolipidica dei tessuti, di modulare l'attività del citocromo P450, e di ridurre la induzione di ornitina decarbossilasi e di proteina chinasi K.

L'elevata concentrazione di CLA nei prodotti estivi può essere dovuta non solo alla diversa alimentazione, ma anche all'attività della microflora del latte ed alla cottura della cagliata. Infatti l'agitazione della cagliata durante la cottura facilita la formazione dei CLA a causa dell'assorbimento di aria e l'attivazione della lipolisi con formazione di radicali dell'acido linoleico.

**Tabella 1.** Composizione percentuale in acidi grassi (espressi come esteri metilici) con un numero di atomi di carbonio compreso fra 4 e 20 dei campioni di Ossolano estivi ed invernali e significatività del confronto (*p*).

	Formaggi invernali		Formaggi estivi		<i>p</i>
	<i>x</i>	<i>σ</i>	<i>x</i>	<i>σ</i>	
C <sub>4:0</sub>	3.51	0.37	3.11	0.22	<0.01
C <sub>6:0</sub>	2.34	0.21	1.73	0.19	<0.01
C <sub>8:0</sub>	1.47	0.18	0.99	0.19	<0.01
Σ(C <sub>4:0</sub> +C <sub>6:0</sub> +C <sub>8:0</sub> )	7.32	0.67	5.84	0.54	<0.01
C <sub>10:0</sub>	3.01	0.47	1.92	0.44	<0.01
C <sub>10:1</sub>	0.37	0.10	0.23	0.05	<0.01
C <sub>12:0</sub>	3.25	0.85	2.07	0.39	<0.01
C <sub>13:0</sub>	0.11	0.04	0.12	0.05	0.555
C <sub>14:0</sub>	11.92	0.85	8.32	0.82	<0.01
C <sub>14:1</sub>	0.20	0.07	0.22	0.04	0.353
ΣC <sub>14:0 ramificati</sub>	1.04	0.14	0.67	0.11	<0.01
C <sub>15:0</sub>	1.24	0.14	1.48	0.23	<0.01
ΣC <sub>15:0 ramificati</sub>	1.03	0.15	1.19	0.11	<0.01
C <sub>16:0</sub>	30.74	1.89	24.26	1.00	<0.01
C <sub>16:1</sub>	0.41	0.08	0.38	0.08	0.112
ΣC <sub>16:0 ramificati</sub>	1.48	0.14	1.65	0.19	<0.01
Σ(C <sub>10:0</sub> +C <sub>12:0</sub> +C <sub>14:0</sub> +C <sub>16:0</sub> )	48.93	3.37	36.57	2.14	<0.01
C <sub>17:0</sub>	0.74	0.20	0.93	0.13	<0.01
ΣC <sub>17:0 ramificati</sub>	1.22	0.15	1.30	0.26	0.101
C <sub>17:1</sub>	0.34	0.09	0.41	0.12	<0.01
C <sub>18:0</sub>	10.17	0.95	12.72	1.06	<0.01
C <sub>18:1</sub>	21.48	1.74	29.37	1.75	<0.01
cis-9, trans-11-C <sub>18:2</sub>	0.89	0.16	2.23	0.42	<0.01
Σ(C <sub>18:2</sub> )*	2.48	0.55	2.95	0.48	<0.01
C <sub>18:3</sub>	0.75	0.15	1.30	0.25	<0.01
Σ(C <sub>18:0</sub> +C <sub>18:1</sub> +c-9,t-11-C <sub>18:2</sub> +ΣC <sub>18:3</sub> +C <sub>18:3</sub> )	34.89	2.67	46.33	2.36	<0.01
Σ(C <sub>18:1</sub> +c-9,t-11-C <sub>18:2</sub> +ΣC <sub>18:3</sub> +C <sub>18:3</sub> )	24.71	1.90	33.62	1.71	<0.01
C <sub>20:0</sub>	0.15	0.06	0.28	0.10	<0.01
C <sub>20:1</sub>	0.14	0.06	0.19	0.06	<0.01
Σ acidi grassi saturi	71.51	3.33	61.02	1.75	<0.01
Σ acidi grassi insaturi	28.08	1.92	39.00	1.66	<0.01
C <sub>16:0</sub> / (C <sub>18:0</sub> +C <sub>18:1</sub> +c-9,t-11-C <sub>18:2</sub> +ΣC <sub>18:3</sub> +C <sub>18:3</sub> )	0.89	0.10	0.53	0.05	<0.01
C <sub>16:0</sub> / (C <sub>18:1</sub> +c-9,t-11-C <sub>18:2</sub> +ΣC <sub>18:3</sub> +C <sub>18:3</sub> )	1.25	0.15	0.72	0.06	<0.01

(*x* - media; *σ* - deviazione standard; \* - somma di tutti gli isomeri posizionali e geometrici dell'acido linoleico ad esclusione dell'acido rumenico)

Inoltre l'agitazione ed il riscaldamento della cagliata aumentano l'interazione fra le proteine ed i globuli di grasso e determinano la cessione di ioni idrogeno da parte delle proteine al fine di convertire i radicali di acido linoleico a CLA. (Lin et al., 1999).

Nei prodotti estivi si osserva altresì un aumento degli acidi n-3 ed un corrispondente decremento degli acidi n-6 con importanti effetti nutrizionali in quanto gli acidi grassi polinsaturi n-3 sono ritenuti particolarmente importanti per un corretto funzionamento del cervello e della retina (Jahangiri et al., 2002).

### Conclusioni

Anche nel caso del formaggio 'Ossolano' la differente alimentazione dei bovini nelle aziende di pianura e di alpeggio influenza in modo significativo la composizione dei grassi del latte e quindi i formaggi prodotti nelle due aree. In particolare l'effetto più importante per i formaggi di alpeggio è il decremento di acidi saturi e l'incremento di acidi insaturi. Ciò assume una notevole importanza non solo in relazione a azioni biologiche e nutrizionali svolte dagli acidi grassi insaturi ed in

particolare dai CLA, ma anche per la possibilità di utilizzare di tali composti ai fini della definizione dell'origine del prodotto per la futura richiesta di DOP.

### Ringraziamenti

Lavoro finanziato dalla Regione Piemonte nell'ambito del Progetto Interreg II "Caratterizzazione del formaggio Nostrano Ossolano"

### Bibliografia

- Banni S., Murru E., Angioni E., Carta G., Melis M.P. (2002) - Conjugated linoleic acid isomers (CLA): good for everything? Sci. Aliments, 22, 371-380.
- Brun Bellut J., Laurent F., Vignon B. (1985) - Effetti della alimentazione sulla composizione del latte. Latte, 10, 314-326.
- Bugaud C., Buchin S., Coulon J.B., Hauwuy A., Dupont D. (2001a) - Influence of the nature of alpine pastures on plasmin activity, fatty acid and volatile compound composition of milk. Lait, 81, 401-414.
- Bugaud C., Buchin S., Noël Y., Tessier L., Pochet S., Martin B., Chamba J.F. (2001b) - Relationships between Abundance cheese texture, its composition and that of milk produced by cows grazing different types of pastures. Lait, 81, 593-607.
- Chilliard Y., Ferlay A., Mansbridge R.M., Doreau M., Agabriel J., Givens I. (2000) - Ruminant milk fat plasticity: nutritional control of saturated, polyunsaturated, trans and conjugated fatty acids. Ann. Zootech., 49, 181-205.
- Collomb M., Bütikofer U., Spahn M., Jeangros B., Bosset J.O. (1999) - Composition en acides gras et en glycérides de la matière grasse du lait de vache en zone de montagne et de plaine. Sci. Aliments, 19, 97-110.
- Evans M.E., Brown J.M., McIntosh M.K. (2002) - Isomer-specific effects of conjugated linoleic acid (CLA) on adiposity and lipid metabolism. Journal of Nutritional Biochemistry 13, 508-516.
- Grummer R.R. (1991) - Effect of feed on the composition of milk fat. J. Dairy Sci., 74, 3244-3257.
- Ila Y.L., Grimm N.K., Pariza M.W. (1989) - Newly recognized anticarcinogenic fatty acids: identification and quantification in natural and processed cheeses. J. Agric. Food Chem., 37, 75-81.
- Hill M.J. (1987) - Dietary fat and human cancer (A review). Anticancer Res., 7, 281-292.
- Hubbard N.E., Lim D., Summers L., Erickson K.L. (2000) - Reduction of murine mammary tumor metastasis by conjugated linoleic acid. Cancer Lett., 150, 93-100.
- Innocente N., Pratlone D., Corradini C. (2002) - Fatty acid profile of cheese produced with milk from cows grazing on mountain pastures. Ital. J. Food Sci., 14, 217-224.
- ISO (2000) - International standard. Animal and vegetable fats and oils. Preparation of methyl esters of fatty acids. ISO 5509:2000(E), International Organisation for Standardisation, Geneva, Switzerland.
- Jahangiri A., Leifert W.R., McMurchie E.J. (2002) - Omega-3 polyunsaturated fatty acids: recent aspects in relation to health benefits. Food Australia, 54, 74-77.
- Jiang J., Bjoerck L., Fonden R. (1997) - Conjugated linoleic acid in Swedish dairy products with special reference to the manufacture of hard cheeses. Int. Dairy J., 7, 863-867.
- 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.
- Jahreis G., Fritsche J., Mockel P., Schone F., Moller U., Steinhart H. (1999) - The potential anticarcinogenic conjugated linoleic acid, cis-9,trans-11 C18:2, in milk of different species: cow, goat, ewe, sow, mare, woman. Nutr. Res., 19, 1541-1549.
- Kelly M.L., Kolver E.S., Bauman D.E., Amburgh M.E., Muller L.D. (1998) - Effect of intake of pasture on concentrations of conjugated linoleic acid in milk of lactating cows. J. Dairy Sci., 81, 1630-1636.
- Lin H., Boylston T.D., Lueddecke L.O., Shultz T.D. (1999) - Conjugated linoleic acid content of Cheddar-type cheeses as affected by processing. J. Food Sci., 64, 874-878.
- Martin A. (2001) - Nutritional recommendations for the French population. The 'Apports Nutritionnels Conseillés' (ANCs). Sci. Aliments, 21, 309-460.
- Mougiou V., Matsakas A., Petridou A., Ring S., Sagredos A., Melissopoulou A., Tsigilis N., Nikolaidis M. (2001) - Effect of supplementation with conjugated linoleic acid on human serum lipids and body fat. J. Nutr. Biochem., 12, 585-594.
- Parodi P.W. (1994) - Conjugated linoleic acid: an anticarcinogenic fatty acid present in milk fat. Aust. J. Dairy Technol., 49, 93-97.