

Processi tradizionali e polifenoli naturali per formaggi innovativi e nutraceutici

l'aggiunta di composti antiossidanti naturali nei prodotti caseari ne aumenta il valore nutrizionale e il periodo di conservabilità

di
**Pietro Barbaccia, Nicola Francesca,
 Raimondo Gaglio, Luca Settanni,
 Rosa Guarcello**
 Dipartimento Scienze Agrarie, Alimentari
 e Forestali, Università degli Studi di Palermo

I composti antiossidanti

Le sostanze antiossidanti rappresentano una classe di composti eterogenei che comprende vitamine e precursori, minerali, sostanze di natura amminoacidica e lipidica, sostanze appartenenti al gruppo dei carotenoidi e molecole di origine vegetale. Tali composti contribuiscono in maniera fondamentale a rallentare la velocità di ossidazione dei costituenti lipidici e impediscono la scissione degli acidi grassi saturi e la loro combinazione con altre molecole, rendendole nocive per l'organismo umano (Langeseth, 1995). L'ossidazione lipidica dà origine a radicali liberi, ovvero specie molecolari dotate di un elettrone in meno sulla loro orbita più esterna e, pertanto, altamente reattive e responsabili di processi di invecchiamento con tutte le conseguenze negative sull'organismo (Palace et al., 2001). In particolare, gli ossidanti e i radicali che influenzano varie patologie sono specie altamente reattive formate da ossigeno triplesso, e molecole lipidiche insature. La perossidazione lipidica rappresenta non solo un

problema di alterazione per gli oli edibili e, quindi, per l'industria alimentare, ma anche per l'organismo umano. Un eccesso di produzione di specie radicaliche dell'ossigeno, in particolare di radicali idrossilici, può interessare le membrane cellulari lipidiche e produrre perossidi e specie reattive dell'ossigeno (Reactive oxygen species - ROS). Le specie vegetali sono ricche in sostanze antiossidanti, quali tocoferoli, vitamina C, carotenoidi e composti fenolici. Ai composti fenolici sono stati attribuiti effetti rilevanti non solo nella prevenzione primaria e secon-

daria di alcune importanti patologie cardiovascolari e oncologiche, ma anche nell'invecchiamento precoce e nelle patologie del sistema nervoso (Han et al., 2007).

Nelle piante, i fenoli svolgono la funzione di "riparazione" delle lesioni tissutali provocate da danni meccanici o da agenti patogeni, mediante reazioni di ossidazione e combinazione con proteine ed altri componenti costituendo una barriera protettiva. Inoltre, i polifenoli, dotati di proprietà sensoriali quali gusto amaro e pungente, scoraggiano l'attacco di insetti ed

Tab. 1. Composti antiossidanti e matrice di provenienza (Shabidi, 1997)

Composti antiossidanti	Matrice di provenienza
Vitamina E (tocoferoli e tocotrienoli)	Oli di semi, olio di palma, nocciola, uova, prodotti caseari, cariossidi di grano, vegetali, cereali, margarine, ecc.
Vitamina C	Frutti e vegetali, uva, agrumi, germogli, peperone verde, patate, ecc.
Carotenoidi	Vegetali a foglia scura, carote, patate dolci, pomodori, albicocche, agrumi, cavolo verde, rape verdi, olio di palma, ecc.
Flavonoidi/isoflavoni	Frutti e vegetali, oli di semi, uva, melanzane, peperoni, agrumi, pomodori, ecc.
Acidi fenolici e derivati fenolici	Oli di semi, oli vergini di oliva, cereali, ecc.
Catechine	Tè verde, uva, oli di semi, ecc.
Estratti	Estratti da tè verde, rosmarino, salvia, chiodi di garofano, origano, timo, avena, crusca di riso, ecc.

animali superiori, come erbivori ed uccelli. I prodotti intermedi della fotosintesi possono produrre anche alti livelli di ossigeno, radicali liberi e ROS. Pertanto, le piante utilizzano una elevata varietà di composti antiossidanti per assicurare la propria sopravvivenza. Molti di questi composti presentano una similitudine nella struttura molecolare, in quanto possiedono almeno un anello aromatico e un gruppo idrossilico. Essi comprendono: acidi fenolici, flavonoidi e isoflavoni, esteri gallati (tannini idrolizzabili), lignani, cumarine, stilbeni, flavononi e proantocianidine oligomere. Tali composti danno origine ad una serie di sostanze antiossidanti che, agendo con meccanismi diversi, costituiscono un sistema di difesa contro l'attacco dei radicali liberi. La tabella 1 riporta una lista di alcuni antiossidanti naturali e la loro matrice di provenienza (Shahidi, 1997).

Impiego di composti antiossidanti in matrici alimentari

L'uso dei composti antiossidanti come additivi in matrici alimentari è di particolare interesse al fine di migliorarne le proprietà nutraceutiche, ovvero tutte quelle proprietà che hanno un effetto positivo sulla salute del consumatore. Un nutraceutico è, nella sua definizione originale, un alimento, o parte di un alimento con comprovati effetti benefici e protettivi sulla salute sia fisica che psicologica dell'individuo. A tal fine un "antiossidante ideale" deve: essere sicuro; non impartire colore, odore e gusto; essere efficace a basse concentrazioni; perdurare al termine del processo di produzione dell'alimento; essere stabile nel prodotto finito; essere solubile nella fase lipidica; essere facilmen-

te disponibile a basso costo; essere "naturale" e, pertanto, riportato in etichetta per attirare il consumatore (Cuppett et al., 1997).

Nel mondo vegetale, i polifenoli, oltre a contribuire ai meccanismi di resistenza contro microrganismi patogeni e insetti, sono determinanti per la pigmentazione e conferiscono le caratteristiche organolettiche tipiche ai vari prodotti. È noto, infatti, che frutta e vegetali, in particolare quelli tipici dell'area mediterranea, necessitano di una molteplicità di composti per preservare la loro integrità in seguito agli stress ambientali, soprattutto per la prolungata esposizione alle radiazioni ultraviolette e alle alte temperature. Tali fattori stimolano la sintesi di composti protettivi come le antocianine.

I polifenoli includono diverse classi di composti (Fig. 1) con una struttura chimica comune: sono derivati del benzene con uno o più gruppi idrossilici associati all'anello (Scalbert e Williamson, 2000). Questa struttura consente a tali composti di funzionare attivamente da *scavenger* per stabilizzare i radicali liberi, agenti riducenti, chelanti di metalli pro-ossidanti e da *quencher* della formazione di ossigeno singoletto (Rice-Evans et al., 1996).

Le principali classi di polifenoli includono: flavonoidi, acidi fenolici, stilbeni e lignani. Questa suddivisione viene effettuata in funzione del numero degli anelli fenolici e degli elementi strutturali che legano tali anelli (Cutrim et al., 2018; Traserra-Rimbau et al., 2018).

Le sostanze polifenoliche, dati gli effetti benefici sulla salute umana (Chung et al., 1998), possono essere addizionate a numerosi sistemi di produzione alimentare con la funzione di aumentare il potere nutraceutico dei prodotti finiti (O'Connell, Fox, 2001).

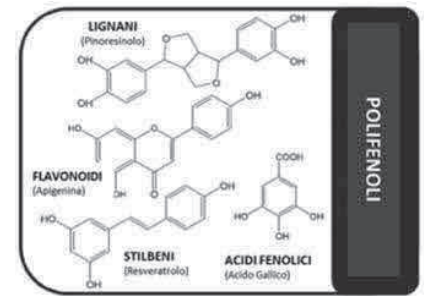


fig. 1. Struttura chimica delle principali classi di polifenoli (Traserra-Rimbau et al., 2018)

Produzione di formaggio con aggiunta di polifenoli

Nella produzione di formaggio, la cagliata viene in genere preparata mediante la coagulazione delle proteine del latte con un enzima o un acido e con o senza ulteriore trattamento della cagliata con calore, pressione, sale e una serie di microrganismi autoctoni o selezionati (Potter, Hotchkiss, 1995). In relazione all'aggiunta di polifenoli ai prodotti lattiero-caseari, tale operazione può determinare l'insorgenza di problematiche legate alla tecnologia di produzione che ne influenza la quantità, stabilità e disponibilità nei prodotti finiti.

Le proteine del latte sono strutture definite, le cui proprietà dipendono dalla sequenza primaria e da interazioni intra ed intermolecolari (Jaenicke, 1991). L'aggiunta dei polifenoli influenza e modifica tali proprietà e ciò influisce sulle proprietà del latte (Hermier e Cerf, 1986). A questo proposito, il gruppo di Han et al. (2011) si è occupato di valutare l'effetto dell'aggiunta di polifenoli sul processo di produzione del formaggio, così come della loro persistenza nel prodotto finito. I risultati ottenuti appaiono molto significativi, in quanto i polifenoli aggiunti sono stati ritrovati nei formaggi e le perdite rispetto all'aggiunta sono state minime. Per quanto concerne, invece, il processo di coagulazione, tale studio ha dimostrato, che l'aggiunta

dei polifenoli influenza i parametri di coagulazione del latte, quali velocità di coagulazione, consistenza e pH del coagulo. Nello specifico, l'aggiunta di differenti polifenoli tra cui catechina e acido vanillico ha determinato l'abbassamento del pH del coagulo che ha accelerato la sua formazione.

In un altro studio, Han et al. (2011b), hanno valutato le caratteristiche fisiche dei formaggi addizionati con polifenoli (catechine, epigallocatechine gallate, e acido vanillico). Analisi condotte al microscopio elettronico per individuare cambiamenti nella microstruttura hanno rilevato che formaggi addizionati con estratti polifenolici apparivano caratterizzati da una componente interna meno liscia e più grossolana. Dalle analisi di umidità e compattezza della pasta è emerso che i formaggi addizionati con le molecole bioattive risultavano contenere meno acqua ed erano caratterizzati da una compattezza maggiore rispetto al controllo senza polifenoli aggiunti. Tale osservazione è stata imputata alle interazioni dei polifenoli con le caseine del latte. Ciò è dovuto, probabilmente, all'annessione alla struttura del formaggio delle sostanze polifenoliche che, interagendo con proteine e grassi già presenti, hanno reso il prodotto più eterogeneo dal punto di vista fisico.

I polifenoli addizionati in prodotti alimentari, possono inibire la crescita di alcuni microrganismi. Per i prodotti lattiero-caseari tale interazione può essere problematica, in quanto l'inibizione potrebbe riguardare i batteri lattici rilevanti per la fermentazione e, soprattutto, per la maturazione. Lo studio di Tabasco et al., 2011 si è occupato di descrivere l'effetto dei polifenoli presenti nell'estratto di semi d'uva

su alcuni ceppi di batteri lattici. Dal lavoro è emerso che alcuni ceppi appartenenti alle specie *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus fermentum*, *Lactobacillus acidophilus* e *Lactobacillus vaginalis* erano sensibili alla presenza di diversi polifenoli, mentre altri ceppi di *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus casei* e *Lactobacillus bulgaricus* erano in grado di crescere in presenza di queste sostanze bioattive senza metabolizzarle. Tuttavia, all'interno della specie *L. plantarum* sono stati riscontrati ceppi in grado di metabolizzare del tutto i polifenoli oggetto di studio.

duttivi tradizionali sono tutelati a livello europeo dal regolamento CE 509/2006 CE, relativo alle specialità tradizionali garantite dei prodotti agricoli e alimentari (Regolamento CE, 2006), e a livello italiano, dal decreto ministeriale 130/2000 in cui sono annessi una serie di prodotti tipici italiani le cui produzioni storiche sono tutelate e salvaguardate (Decreto Ministeriale, 2000). Tra questi si annovera un insolito formaggio (formaggio "imbrigiato") prodotto nel nord-est del Paese con latte vaccino pastorizzato e con l'aggiunta di starter commer-



fig. 2.
A, vinacce disidratate;
B, prove di caseificazione con latte vaccino e ovino;
C, formaggi sperimentali

Pertanto, da questi dati emerge la necessità di selezionare i batteri lattici sia starter (responsabili del processo di acidificazione) che non starter (necessari per il processo di maturazione) resistenti ai polifenoli, ma inerti nei loro confronti, al fine di poter aggiungere tali sostanze ai formaggi per ottenere prodotti nutraceutici.

Il "formaggio ubriaco"

In Italia esistono metodologie di arricchimento dei formaggi in polifenoli che vengono tramandati da generazioni. Tali processi pro-

ciali e caglio in pasta di vitello, che, dopo un periodo variabile di stagionatura, viene immerso e lasciato riposare nel vino o nelle vinacce di varietà diverse (*Vitis labrusca* e *Vitis vinifera* Cabernet, Merlot, Refosco, Sauvignon, Tocai Friulano e Verduzzo); dopo questo periodo segue un'ulteriore fase che rappresenta la stagionatura vera e propria (Innocente et al., 2007). Il prodotto finale si presenta con una crosta color porpora o giallo intenso, a seconda che si tratti rispettivamente di varietà a bacca rossa o bianca, mentre la pasta mantiene sempre il suo ca-

ratteristico colore giallo paglierino. Il sapore è caratterizzato da diverse note floreali e fruttate, a seconda delle cultivar usate (Corradini, et

na nel formaggio stagionato, frutto della migrazione durante il periodo di immersione nel vino o nelle vinacce.

i prodotti finali sono caratterizzati da un elevato valore nutrizionale, lunga conservabilità e proprietà nutraceutiche

al., 2002; Innocente et al., 2006).


Innocente e coautori nel 2007 hanno, inoltre, studiato i parametri chimico-fisici, l'indice di proteolisi e il contenuto in acidi grassi, con particolare attenzione alla frazione volatile, di questi formaggi. Dai risultati è emerso che questa insolita tecnologia adottata nel post-stagionatura non determina modifiche sulla proteolisi; d'altra parte, la composizione della frazione aromatica risultava largamente influenzata da tale pratica. In particolare, sono stati ritrovati alcoli ed etil-esteri a corta cate-

Conclusioni e sperimentazioni in corso

È noto che estratti ricchi in polifenoli naturali mostrano effetti differenti sui batteri alimentari e questo fornisce una base scientifica per la loro applicazione in varie produzioni, al fine di ottenere prodotti innovativi e nutraceutici partendo da processi tradizionali. I prodotti finali sono caratterizzati da un elevato valore nutrizionale, lunga conservabilità e proprietà nutraceutiche.

Studi sono in corso presso il Dipartimento Scienze Agrarie, Ali-

mentari e Forestali dell'Università degli Studi di Palermo al fine di ottenere informazioni esaustive a questo riguardo applicando polifenoli e batteri lattici selezionati per la produzione di diverse tipologie di formaggio, nell'ambito del progetto MiSE - 2017-NAZ-0228 - CUP: B78I17000260008 dal titolo "Approccio integrato per lo sviluppo di prodotti innovativi nei settori trainanti del comparto agroalimentare siciliano" finanziato dal Ministero dello Sviluppo Economico.

A tal proposito, vinacce provenienti da lavorazioni vinarie miste (Fig. 2A) sono state testate in prove di caseificazione con latte vaccino e ovino (Fig. 2B) per valutare l'influenza delle stesse sul processo di sineresi della cagliata così come sulla coesione dei granuli caseosi. Da tali prove in corso, sono risultati dei formaggi sperimentali in grado di mantenere le vinacce in polvere (Fig. 2C). 

BIBLIOGRAFIA

Corradini, C., Bonessi, M. P., Innocente, N., Pinat, B. A., & Viola, M. (2002). Cibario del Friuli Venezia Giulia: atlante dei prodotti della tradizione. ERSA.

Cuppert S., Schnepf M., Hall III C. (1997). Natural Antioxidants: An Overview. In: Shahidi F.(Ed.): Natural Antioxidants - *Chemistry, Health Effects, and Applications*. 13-24. AOCS Press, Champaign, Illinois.

Cutrim, C. S., & Cortez, M. A. S. (2018). A review on polyphenols: Classification, beneficial effects and their application in dairy products. *International Journal of Dairy Technology*.

Decreto Ministeriale n. 130, 18.07.2000. Elenco nazionale dei prodotti agroalimentari tradizionali. In Gazzetta Ufficiale 194, 21.08.2000.

Han, J., Britten, M., St-Gelais, D., Champagne, C. P., Fustier, P., Salmieri, S., & Lacroix, M. (2011). Effect of polyphenolic ingredients on physical characteristics of cheese. *Food Research International*, 44(1), 494-497.

Han, J., Britten, M., St-Gelais, D., Champagne, C. P., Fustier, P., Salmieri, S., & Lacroix, M. (2011). Polyphenolic compounds as functional ingredients in cheese. *Food Chemistry*, 124(4), 1589-1594.

Han, X., Shen, T., & Lou, H. (2007). Dietary polyphenols and their biological significance. *International Journal of Molecular Sciences*, 8(9), 950-988.

Hermier, J., Cerf, O. (1986). Methods of heat treatment. In A. Eck (Ed.), *Cheesemaking science and technology* (pp. 149-156). New York, NY: Lavoisier Publishing Inc.

Innocente, N., Biasutti, M., & Comuzzo, P. (2007). Characterization of a traditional semi-hard Italian cheese produced by soaking in wine. *Food chemistry*, 105(4), 1452-1456.

Jaenicke, R. (1991). Protein stability and molecular adaptation to extreme

conditions. In *EJB Reviews 1991* (pp. 291-304). Springer, Berlin, Heidelberg.

Langeseth L., (1995). Oxidants and antioxidants. *ILSI Europe Concise Monograph Series*. Washington, DC, ILSI Press

O'connell, J. E., & Fox, P. F. (2001). Significance and applications of phenolic compounds in the production and quality of milk and dairy products: a review. *International Dairy Journal*, 11(3), 103-120.

Palace, V. P., Khaper, N., Qin, Q., & Singal, P. K. (1999). Antioxidant potentials of vitamin A and carotenoids and their relevance to heart disease. *Free Radical Biology and Medicine*, 26(5-6), 746-761.

Potter, N. N., Hotchkiss, J. H. (1995). Food science (5th ed.). New York, NY: Springer.

Regolamento CE n. 2676/90 della Commissione del 17.09.06 che determina i metodi d'analisi comunitari da utilizzare nel settore del vino. In Gazzetta Ufficiale CE L272, 3.10.1990.

Rice-Evans, C. A., Miller, N. J., & Paganga, G. (1996). Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids. *Free radical biology and medicine*, 20(7), 933-956.

Scalbert, A., & Williamson, G. (2000). Dietary intake and bioavailability of polyphenols. *The Journal of nutrition*, 130(8), 2073S-2085S.

Shahidi F. (1997). Natural Antioxidants: An Overview. In: Shahidi F. (ed.): Natural Antioxidants - Chemistry, Health Effects, and Applications, 1-11. AOCS Press, Champaign, Illinois.

Tabasco, R., Sánchez-Patán, F., Monagas, M., Bartolomé, B., Moreno-Arribas, M. V., Peláez, C., & Requena, T. (2011). Effect of grape polyphenols on lactic acid bacteria and bifidobacteria growth: resistance and metabolism. *Food microbiology*, 28(7), 1345-1352.

Tresserra-Rimbau, A., Lamuela-Raventos, R. M., & Moreno, J. J. (2018). Polyphenols, food and pharma. Current knowledge and directions for future research. *Biochemical pharmacology*.