



CO.T.I.R.

Agro alimentare

editoriale

Lo scenario dell'**Agroalimentare** è oggi caratterizzato dalla globalizzazione dei mercati e, strettamente legata ad essa, da una serie di fenomeni quali la crescita vigorosa, ma fortemente squilibrata dell'economia mondiale e il braccio di ferro che, in questi anni, si è dispiegato in sede WTO sui problemi dell'agricoltura. Le vicende a livello internazionale rendono la produzione nazionale agroalimentare sempre più dipendente da un mercato caratterizzato da una dimensione globale. Proprio per tale motivo, il futuro della filiera agroalimentare è strettamente legato alla sua capacità di gestire in modo efficace una competizione fondata sul binomio innovazione-produttività. In tale direzione, un ruolo determinante viene assolto dalla **ricerca** che in Italia ha oggi raggiunto potenzialità consistenti, grazie anche alle sinergie apportate dai ricercatori provenienti dalle diverse istituzioni sia pubbliche che private. **La valorizzazione del Comparto Agroalimentare** è un obiettivo primario anche della Regione Abruzzo che sta puntando ormai da tempo allo sviluppo di processi di specializzazione territoriale, sotto forma di distretti, in gra-

do di contribuire in maniera consistente agli obiettivi occupazionali e di reddito. In questo contesto il COTIR ha, nel corso degli anni, attivato interessanti progetti di ricerca volti alla caratterizzazione di prodotti sia nel settore vitivinicolo che caseario attraverso l'utilizzo della risonanza magnetica nucleare (NMR).

Proprio ad una attività di ricerca con **tecnica NMR** è dedicata questa seconda newsletter del 2008; un interessante progetto in via di svolgimento che ha l'obiettivo di **"caratterizzare l'origine animale dei formaggi misti"**. L'interesse della Regione Abruzzo al potenziamento del sistema agroalimentare è, inoltre, evidente nel nuovo **Programma di Sviluppo Rurale 2007-2013**, di recente pubblicato sul Bollettino regionale, e sul quale i nostri amministratori riservano fiduciose aspettative e ricadute occupazionali per l'intero comparto.

Il COTIR è presente anche su questo versante pronto ed attento a cogliere ogni cambiamento ed innovazione che la moderna agricoltura offre.

Il Presidente del COTIR



Fig. 1—Spettrometro a Risonanza Magnetica Nucleare presente nel laboratorio Analsi Chlmiche del COTIR



Fig. 2 — Azienda Agricola Di Francesco Donato - Campioni di formaggio per analsi NMR

Sommario:

Editoriale	1
Caratterizzazione dell'origine animale di formaggi misti mediante spettroscopia NMR	2
Materiali e metodi	3
Risultati	3
Conclusioni	
Chi siamo	4
Seminari	4
Nel prossimo numero	4

CARATTERIZZAZIONE DELL'ORIGINE ANIMALE DI FORMAGGI MISTI MEDIANTE SPETTROSCOPIA NMR.



Fig. 3 — Preparazione di un campione per l'analisi NMR

Lo spettro ^1H NMR di un estratto agro-alimentare può contenere centinaia o addirittura migliaia di risonanze e rappresenta, da un punto di vista chimico, "l'impronta digitale" del campione

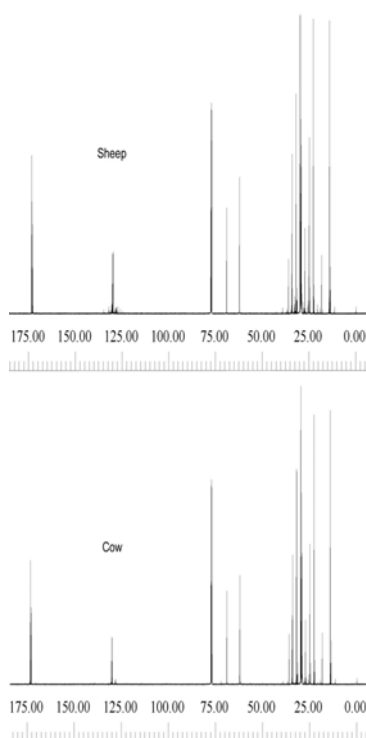


Fig. 4 - Spettri ^{13}C -NMR degli estratti lipidici di formaggio vaccino e pecorino

La **Spettroscopia di Risonanza Magnetica Nucleare (NMR)** è una tecnica analitica molto potente che consente di ottenere informazioni sulla composizione chimica, sulla dinamica e sulla struttura molecolare di matrici agro-alimentari e dei loro estratti. E' possibile individuare tre filoni principali di indagine NMR: la spettroscopia NMR ad alta risoluzione, la ricostruzione di immagine o tomografia NMR e la NMR a bassa risoluzione. Numerosi gruppi di ricerca hanno ottenuto risultati molto soddisfacenti su un gran numero di alimenti con vari metodi NMR. Tra gli **alimenti studiati** via NMR il più noto è il **vino** che viene analizzato utilizzando il metodo isotopico: l'analisi quantitativa della distribuzione degli isotopi (^{13}C , ^{15}N , ^2H ecc.) sui vari gruppi funzionali. Questo metodo, sviluppato originariamente da Martin [1] è approvato come metodo ufficiale di analisi dall'Unione Europea. Tutti gli altri metodi di analisi NMR che vengono riportati sono ancora sperimentali anche se in alcuni casi già in valutazione per diventare metodi ufficiali. In effetti, **le metodologie NMR** stanno diventando sempre più popolari e vengono considerate indispensabili per tutti gli studi di caratterizzazione della materia organica.

Lo spettro ^1H NMR di un estratto agro-alimentare può contenere centinaia o addirittura migliaia di risonanze e rappresenta, da un punto di vista chimico, "l'impronta digitale" del

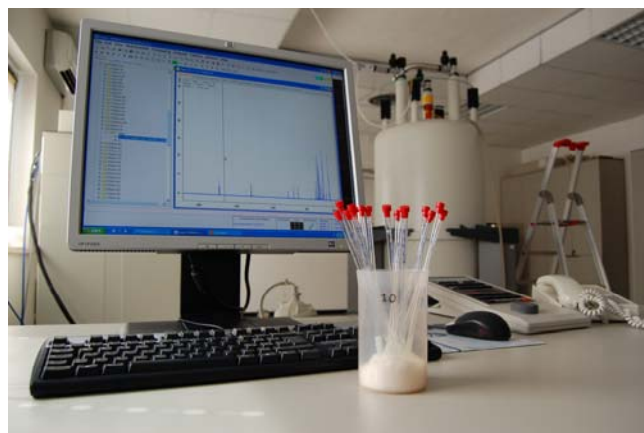


Fig. 5 - Laboratorio NMR del COTIR

campione in esame. Pertanto, al di là della possibilità di identificazione e quantificazione delle sostanze contenute nel campione, lo spettro NMR può essere utilizzato, in linea di principio, per l'identificazione del campione stesso o per la sua assegnazione ad un determinato gruppo di appartenenza. Infatti, esso è un **codice di identificazione** sufficientemente affidabile per la classificazione di sostanze agro-alimentari, tuttavia la variabilità naturale della composizione chimica di tali matrici rende più complessa la procedura di identificazione. Per poter tener in conto la variabilità naturale della composizione chimica di campioni alimentari è necessario ricorrere a metodi statistici di classificazione. Lo spettro NMR è acquisito in forma digitale e contiene un numero elevato di punti allo scopo di rappresentare al meglio ciascuna risonanza. Pertanto, molti punti dello spettro contengono informazioni ridondanti sulla concentrazione delle

sostanze chimiche presenti nel campione. Sebbene lo spettro NMR possa essere utilizzato direttamente nelle analisi statistiche volte alla classificazione dei campioni, è necessario di fatto manipolarlo al fine di **ridurre il numero di variabili** da utilizzare. Infatti, nella maggior parte degli algoritmi statistici il numero di variabili da utilizzare deve essere molto più piccolo del numero di campioni analizzati allo scopo di evitare fenomeni di "overfitting". Quindi, dopo aver selezionato le variabili con maggior potere discriminante, si utilizza l'**analisi statistica multivariata** per classificare i campioni. In questo lavoro è stata caratterizzata l'origine animale di formaggi misti analizzando **estratti lipidici** mediante NMR. In realtà, recenti autenticazioni analitiche hanno cercato di trovare parametri che potessero inequivocabilmente identificare l'origine animale del latte, ma le tecniche impiegate risultano lente e laboriose.

Materiali e Metodi

Spettri ^{13}C -NMR sono stati usati per identificare l'origine animale di formaggi misti rilevando la presenza di latte vaccino in formaggi di pecora poiché uno dei problemi nella produzione di formaggi pecorini è la loro adulterazione con il latte vaccino. Sono stati campionati: 8 formaggi pecorini, 8 formaggi vaccini, 8 formaggi ottenuti con il 70% di latte vaccino e il 30% di latte pecorino, 8 formaggi ottenuti con il 50% di latte vaccino e il 50% di latte pecorino e 8 formaggi ottenuti con il 30% di latte vaccino e il 70% di latte pecorino.

Inoltre, per validare i risultati ottenuti, sono stati campionati formaggi misti e formaggi ottenuti con un solo tipo di latte. I campioni sono stati estratti il ventesimo giorno di stagionatura con un semplice metodo di estrazione in Cloroformio.

Gli spettri ^{13}C -NMR sono stati registrati utilizzando uno spettrometro NMR Bruker-600 MHz Avance gestito da un computer che utilizzava un software XWIN-NMR 3.5.

Tipici spettri di estratti lipidici di formaggio vaccino e pecorino sono mostrati in figura 4.

Ciascuno spettro NMR è stato diviso in istogrammi. Le variabili (istogrammi) sono state selezionate e sono state impiegate nell'Analisi Discriminante Lineare (LDA). Nello specifico, le variabili scelte appartengono ai picchi dell'acido caprico, oleico, palmitico, pentadecanoico, miristico, laurico, caprilico e a 4 non assegnati.

Risultati

In figura 6 sono riportati i risultati della Analisi Discriminante (LDA): è evidente come le variabili selezionate riescano a discriminare formaggi ottenuti con percentuali diverse di latte vaccino e pecorino.

L'LDA discrimina assegnando correttamente il 100% dei campioni. Per valutare la capacità di predizione del modello discriminante, sono stati inseriti dei campioni incogniti. Il modello ci permette di predire i campioni incogniti con il 15% di errore (solo 2 campioni sono classificati erroneamente: 2 formaggi con il 30% di latte pecorino sono classificati come se fossero costituiti dal 50% di latte di pecora). Inoltre, interpretando il grafico di correlazione tra le variabili e le funzioni discriminanti, è possibile affermare che nei formaggi pecorini c'è una grande

concentrazione degli acidi grassi caprico e caprilico, mentre nei formaggi vaccini si trova una gran quantità di acido oleico e acidi con più di dieci atomi di carbonio: palmitico, pentadecanoico, miristico e laurico.

Conclusioni

I risultati suggeriscono che con gli spettri ^{13}C -NMR e l'utilizzo dell'analisi statistica multivariata è possibile identificare il latte vaccino presente nel formaggio pecorino anche su formaggi acquistati al supermercato.

Questo potrebbe essere il primo passo per impiegare la NMR nell'identificazione dell'autenticità dei formaggi. Infatti, l'adulterazione dei formaggi di pecora con il latte vaccino è comune data la naturale fluttuazione nel reperire il latte di pecora, il prezzo decisamente maggiore di quest'ultimo e la grande sovrapproduzione di latte vaccino rispetto al pecorino. In questo lavoro è mostrato il limite di rivelabilità al 30% di latte vaccino nel latte pecorino.

Tuttavia, questi risultati ci fanno credere che il nostro limite di rivelabilità possa essere più basso. Sarebbe interessante, in futuro, analizzare un grande numero di campioni con aggiunte fraudolente inferiori.

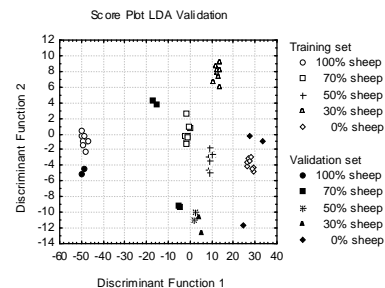


Fig. 6 - LDA con validazione dei formaggi misti e non.



Fig. 7 - Azienda Agricola Di Francesco Donato — Fase iniziale di lavorazione per la preparazione dei campioni di formaggio

“Sarebbe interessante, in futuro, analizzare un grande numero di campioni con aggiunte fraudolente inferiori”



Fig. 8 - Azienda Agricola Di Francesco Donato — Fase terminale di lavorazione per la preparazione dei campioni di formaggio

[1] Martin D.P., Zhang B., and Martin G.J.. *J. Sci. Food Chem.*,67, 113 (1995).

Il progetto è stato realizzato in collaborazione con la *prof.ssa Elisabetta Schievano* - Università di Padova - Dipartimento di Scienze Chimiche

CHI SIAMO

Consorzio per la divulgazione e la sperimentazione delle Tecniche Irrigue

S.S. 16 Nord, n.240
66054 Vasto (CH)

Tel.: 0873310059
Fax: 0873310307
E-mail: cotir@tin.it



Per maggiori informazioni siamo
su internet
www.cotir.it

SEMINARI

c/o Sala "M.Petti" - COTIR

27 maggio 2008 - ore 15.30

"La risonanza magnetica nucleare per la caratterizzazione delle farine proteiche"

Dott.ssa G. Imparato - CO.T.I.R. - Vasto

29 maggio 2008 - ore 16.00

Convegno

"Agricoltura tra fabbisogno alimentare e necessità energetiche: quale modello per uno sviluppo sostenibile"

10 giugno - ore 11.00

"Presentazione dei risultati del 1° anno di monitoraggio dei prodotti fitosanitari in Abruzzo"

Dott.ssa G. Mancinelli — A.R.T.A- Pescara

Il **CO.T.I.R.** è un **Centro di Ricerca della Regione Abruzzo** nato nel 1988 al fine di studiare gli aspetti connessi all'irrigazione allo scopo di ottimizzare e divulgare le tecniche irrigue nel comparto agricolo.

Iscritta all'anagrafe delle ricerche al n. 51894 DZH il CO.T.I.R. è un'azienda certificata **UNI EN ISO 9001:2000** (CSQ - n. 9175.COT2) ed **UNI EN ISO 14001:2004** (BVI n. 176214) ed ha, nel corso degli anni, affrontato con successo le tematiche riguardanti la ricerca applicata e la sperimentazione in campo ambientale, territoriale, agronomico ed agro-alimentare. Inoltre, da alcuni anni il CO.T.I.R, ampliando le tematiche di interesse, svolge attività nel comparto delle **agroenergie** ed degli **agrofarmaci** partecipando attivamente a tavoli tecnici volti allo sviluppo ed implementazione di modelli di filiera compatibili con la realtà regionale, nel rispetto del quadro normativo comunitario.

Le numerose attività realizzate dal COTIR sono svolte attraverso **strutture qualificanti** quali **serre modulari, laboratori chimici e agrari, aziende agrarie** (l'azienda vivaistica di Scerni dispone di un vigneto di piante madri nel quale sono impiantati cloni di barbatelle rappresentativi del panorama nazionale, nonché vitigni autoctoni), **laboratorio NMR** (Risonanza Magnetica Nucleare utilizzata nell'ambito della ricerca nel comparto agroalimentare) e **Sistemi Informativi territoriali**.

Inoltre il CO.T.I.R. è un **Organismo di Formazione** accreditato dalla Regione Abruzzo per l'espletamento dei corsi di formazione ed è partner ,con altri soggetti, sia nella didattica che nella logistica mettendo a disposizione aule attrezzate, sala Conferenza con 130 posti a sedere e laboratorio informatico.

Nel prossimo numero

Filiera prodotti fitosanitari



Fig. 9 - Barra Irroratrice