

R. ROMANO, I. BORRIELLO,
C. MAGALDI, A. GIORDANO,
S. SPAGNA MUSSO

Influenza del grado di stagionatura sulla composizione in acidi grassi, ω -3 e CLA del Provolone del Monaco

PROGRESS IN NUTRITION
VOL. 9, N. 3, 165-173, 2008

TITLE

Ripening grade influence on fatty acids, ω -3 and CLA of Provolone del Monaco cheese

KEY WORDS

Fatty acids, Provolone del Monaco, triglycerides, HRGC, CLA.

PAROLE CHIAVE

Acidi grassi, Provolone del Monaco, trigliceridi, HRGC, CLA.

Dipartimento di Scienza degli
Alimenti - Università degli Studi di
Napoli Federico II

Indirizzo per la corrispondenza:

Dr. Raffaele Romano
Via Università 100 - 80055 Portici (NA)
Tel: 081-2539348 fax: 081-7762580
E-mail: rafroman@unina.it

Summary

Cheese characterization is the first step in order to protect its typical origin. This is the reason why it seems to be essential obtain information not only about raw materials, processing techniques, microbiological characteristics and sensory evaluation but also on chemical and physical evolution of cheese during its ripening. The aim of this study was the proposal of quality index of "Provolone del Monaco D.O.P." cheese by the evaluation of its lipidic composition and in particular of the "minor" acidic fraction, and their variation due to the ripening and type of sample, through High Resolution Gas Chromatography (HRGC) technique. 43 fatty acids were identified. The main constituents of fatty acids composition were medium molecular weight fatty acids (43%) from C11 to C16:1 cis during all ripening time, then there were high molecular weight fatty acids (41%) and low molecular weight fatty acids (8%). As regard the minor acidic component, CLA (Conjugated Linoleic Acid), the highest content was of 9-cis, 11-trans isomer but there wasn't significant differences during ripening. There was significant differences only for the 8t, 10c; 7t, 9c isomer ($\Delta=25\%$). These results contribute to improve the D.O.P. (Protected Designating of Origin) procedure of Provolone del Monaco cheese and to preserve a traditional food with good-tasting qualities.

Riassunto

La caratterizzazione di un formaggio nel corso della stagionatura costituisce un punto di partenza fondamentale per la valorizzazione dei suoi caratteri tipici. Essenziali sono le informazioni non solo sulla materia prima, sul processo tecnologico di lavorazione, sull'ecosistema microbico e sulle caratteristiche sensoriali del prodotto finito, ma anche sull'evoluzione fisico-chimica dei suoi costituenti durante la stagionatura. Obiettivo del seguente studio è stato proporre degli indici per la caratterizzazione del Provolone del Monaco, valutando la componente lipidica, ed in particolare la frazione acidica minore (CLA, ω -3), in funzione del punto di prelievo del formaggio e del tempo di stagionatura, attraverso l'ausilio della Gascromatografia ad alta risoluzione (HRGC). Sono stati identificati 43 acidi grassi. I più abbondanti sono risultati gli acidi grassi a medio peso molecolare (43%) dal C11 al C16:1 cis, durante tutto il periodo della stagionatura, seguiti dagli acidi grassi ad alto peso molecolare (41%) e da quelli a basso peso molecolare con l'8% circa. Per la componente acidica mino-

re, in particolare gli isomeri dell'acido linoleico coniugato (CLA), l'isomero maggiormente presente, nelle nostre condizioni sperimentali, è risultato il 9-cis, 11-trans ma non sono state riscontrate differenze significative nel corso della stagionatura. I CLA che hanno mostrato differenze significative nel corso della stagionatura sono stati l'8-trans, 10-cis e il 7-trans, 9-cis ($\Delta=25\%$). Tali informazioni sono sicuramente utili per implementare la stesura del Disciplinare di produzione in vista del riconoscimento del DOP (Denominazione di Origine Protetta), ma anche per tutelare un prodotto dalle pregevoli qualità.

Introduzione

I formaggi italiani che finora hanno avuto il riconoscimento della "denominazione d'origine" sono 25 e ricoprono oltre il 60% della produzione casearia nazionale (1). Il decreto ministeriale pubblicato sulla Gazzetta Ufficiale del 26 luglio n. 172 ha accordato la protezione transitoria nazionale alla denominazione "Provolone del Monaco", presentata, ai sensi del regolamento comunitario 2081/92, dall'omonimo Comitato promotore. Il Provolone di Sorrento noto col nome di «Provolone del Monaco», è un formaggio a pasta filata stagionato ottenuto da latte crudo di vacche di razza Agerolese, sebbene l'esiguo numero dei capi (150 circa) rende indispensabile l'impiego di altre razze bovine da latte quali: Frisona e Bruna Alpina. Ha una tipica forma a pera o a cilindro senza testina e il suo peso può oscillare tra il 2 e i 9 Kg. Ha pasta di colore crema con toni giallognoli, elastica, compatta, uniforme e senza sfaldature, morbida e con tipiche occhiature (a «occhio di pernice») di diametro variabile fino

a 5 mm, con eventuale presenza di sporadiche occhiature di diametro maggiore, fino a 12 mm, più abbondanti verso il centro della massa. L'odore è intenso, penetrante ed aromatico mentre il sapore può essere dolce, semi-piccante o piccante a seconda della stagionatura (3). L'area di produzione interessa la provincia di Napoli, in particolare le zone basse della Penisola Sorrentina ed il territorio dei Monti Lattari con il comune di Agerola.

Lo studio si propone di valutare la variabilità della composizione in acidi grassi del Provolone del Monaco, in funzione del grado di stagionatura, ponendo particolare attenzione alla concentrazione degli isomeri coniugati, posizionali e geometrici, dell'acido linoleico (CLA). I formaggi, infatti, presentano un contenuto totale in CLA che va dai 3.6 a 19.9 mg/g di grasso, con il cis-9, trans-11 isomero maggiormente presente (4). Tra i formaggi nazionali, quelli che hanno presentato i più alti livelli in CLA sono stati Pecorino Romano, Pecorino Siciliano, Pecorino Sardo e Fontina (5). Il riconoscimento

della denominazione d'origine per il Provolone del Monaco rappresenta un momento essenziale per garantire la sua unicità. In quest'ottica si inserisce il lavoro sperimentale, dove gli obiettivi della ricerca sono stati:

- valutare la componente acidica (CLA, ω -3 etc.) in funzione dell'epoca di stagionatura e del punto di prelievo, attraverso l'ausilio della Gascromatografia ad alta risoluzione (HRGC);
- individuare indici per la caratterizzazione del Provolone del Monaco (Disciplinare di Produzione).

Materiali e metodi

Campionamento

I campioni utilizzati sono stati prelevati presso un'azienda del settore sita nel comune di Vico Equense, in provincia di Napoli.

I campioni di latte e di provolone ottenuti dalla stessa materia prima sono stati prelevati nel periodo Settembre 2005-Maggio 2006, da 4 la-

vorazioni diverse. Ogni trenta giorni sono stati prelevati provoloni con un grado di stagionatura da 1 a 6 mesi per un totale di 24 campioni.

Sono stati esaminati i profili acidici del grasso del latte e del Provolone durante il corso della stagionatura prelevando campioni di formaggio da tre diverse zone:

- Sottocrosta (SC);
- Parte Intermedia (PI);
- Cuore (CU).

Analisi preliminari

Sui campioni di latte sono state effettuate analisi preliminari per la valutazione dei principali e importanti indici chimico-fisici di caseificazione quali:

- pH;
- acidità titolabile ($^{\circ}\text{SH}$);
- % in grasso.

Sui campioni di Provolone del Monaco sono state effettuate analisi preliminari per la determinazione della:

- acidità libera del grasso (% acido oleico);
- residuo secco;
- % in grasso.

Estrazione del grasso dal latte

Una aliquota omogenea di campione, pari a 80 ml, è stata sottoposta ad estrazione a solvente utilizzando il Metodo Schmidt-Bondzynsky-Ratzlaff, Ministero delle Politiche Agricole e Forestali (MIPAF) (D.M. 21 4 1986).

In breve il tenore in materia grassa del latte è stato determinato, previa estrazione della matrice con etere etilico da una soluzione acidificata di latte gravimetricamente.

Analisi del formaggio

Per la preparazione dei campioni sono stati seguiti i Metodi ufficiali di analisi per i formaggi (6). Il carotaggio è stato effettuato con apposito cilindro e sono state prelevate le parti: sotto crosta (SC), zona intermedia (PI) e cuore (CU).

La frazione lipidica è stata determinata gravimetricamente tramite idrolisi del prodotto (15 g), opportunamente omogeneizzato, con soluzione acida per acido cloridrico al 25% in alcol etilico e successiva estrazione della materia grassa mediante miscela etere etilico-n-eptano (2:1 v/v).

Analisi gascromatografica degli acidi grassi e dei CLA

La determinazione della componente acidica è stata eseguita mediante analisi degli esteri metilici degli acidi grassi previa trans-esterificazione effettuata con potassa metanolica (7). La procedura ha previsto la preparazione di una soluzione di grasso in esano al 5%. Ad 1ml di campione sono stati aggiunti 300 μl di potassa metanolica 2N. Dopo agitazione è stato prelevato 1 μl dalla fase superiore per l'analisi gascromatografica 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 (FID) e colonna capillare ad alta risoluzione: 100 m; 0,25 mm ID; 0,20 μm spessore film, fase stazionaria 50% Cyanopropil Methyl 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 con sosta di 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: H₂, flusso 20 cm/sec. Gas ausiliare: H₂. FID miscela aria/H₂ 10/1. Temperatura FID: 260°C. L'identificazione dei picchi è stata effettuata mediante uno standard esterno (SupelcoTM 37 component FAME MIX 47885-U) 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.

Analisi statistica dei risultati

I dati raccolti sono stati analizzati utilizzando il software Statistical Analysis System (SAS) (Kremer et al. 2001). Tutte le variabili sottoposte ad elaborazione sono state analizzate con il test statistico del T-Student.

Tabella 1 - Caratterizzazione chimico-fisica del latte delle 4 lavorazioni

Lavorazione	pH	°SH	Grasso %
1	6.6	7	4.2
2	6.7	7	4.9
3	6.6	8	3.7
4	6.6	7	3.7

Tabella 2 - Composizione in Acidi grassi del latte delle 4 lavorazioni

EMAG (%)	Latte			
	LT1	LT2	LT3	LT4
C4: 0	2,87	2,54	3,03	3,06
36: 0	1,64	1,42	1,75	1,64
C8: 0	1,17	1,07	1,14	1,11
C10: 0	2,21	2,18	2,12	2,05
C11: 0	0,22	0,23	0,22	0,21
Σ Basso PM	8,11	7,44	8,26	8,06
C12: 0	2,85	2,84	2,71	2,59
X1	0,04	0,03	0,04	
X2	0,05	0,06	0,11	0,04
C12: 1	0,01	0,03	0,01	0,05
X3	1,08	0,02	n.d.	0,01
iso/anteiso C13: 0	0,06	0,06	0,06	0,06
C13: 0	0,09	0,07	0,07	0,07
iso/anteiso C14: 0	0,13	0,13	0,12	0,13
C14: 0	10,51	10,43	10,08	9,54
C14: 1	0,030	0,28	0,28	0,28
anteiso C15: 0	0,58	0,54	0,54	0,54
iso C15: 0	0,82	0,87	0,86	0,75
C15: 0	1,04	0,96	0,93	0,93
X4	0,05	0,04	0,04	0,04
iso/anteiso C16: 0	0,23	0,23	0,22	0,22
C16: 0	23,11	23,22	22,76	23,19
X5: 0	0,38	0,37	0,35	0,37
X6: 0	0,21	0,21	0,19	0,22
C16: 1	1,38	1,39	1,32	1,78
X7:	0,56	0,51	0,50	0,03
Σ Medio PM	43,50	42,30	41,19	40,86
isoC17: 0	0,12	0,13	0,11	0,10
C17: 0	0,63	0,67	0,67	0,55
iso/anteiso C18: 0	0,21	0,18	0,18	0,17

Risultati e discussioni

Caratteristiche chimico fisiche e composizione in acidi grassi e CLA del latte

In tabella 1 sono stati riportati i valori di pH, acidità titolabile e tenore in grasso, valutati per la materia prima utilizzata nella preparazione del Provolone del Monaco. Si può osservare come i valori di pH e acidità titolabile sono paragonabili per le 4 lavorazioni, mentre il tenore in grasso presenta una variabilità marcata dovuta a fattori stagionali.

In tabella 2 viene mostrata la composizione in acidi grassi del latte utilizzato per le quattro lavorazioni. Gli acidi grassi identificati vanno dal C4:0 (acido butirrico) al C20:5 (acido eicosapentaenoico - EPA), compresi 6 isomeri dell'acido linoleico coniugato (CLA) di cui uno incognito (X1 CLA). Sulla base di tale identificazione si può notare che gli acidi grassi a medio peso molecolare, dal C11:0 al C16:1 cis, sono i più abbondanti con il 42% circa. Gli acidi grassi saturi, rappresentano circa il 61% del totale, mentre tra gli insaturi (intorno al 30% del totale) il più abbondante è il C18:1 n-9 (acido oleico) con il 19% circa. In tabella 3 sono stati riportati i dati riassuntivi dei rapporti degli acidi grassi del latte. Dal punto di vista nutrizionale è importante considerare il rapporto tra la sommatoria degli acidi grassi saturi/insaturi che risulta essere pari a 2, mentre il quantitativo in ω -3

C18: 0	11,33	11,75	12,02	12,37
C18: 1t	2,17	2,25	2,30	1,95
C18: 1c9	19,01	19,33	19,59	19,61
C18: 1c 12	0,42	0,38	0,39	0,36
Altri C18: 1	0,62	0,66	0,66	0,55
X8	0,15	0,17	0,17	0,15
C18: 2(c9, c12)	3,14	3,00	3,02	3,25
C20: 0	0,17	0,18	0,20	0,17
C20: 1 n9	0,05	0,05	0,05	0,05
Σ C18: 3	0,70	0,65	0,65	0,75
CLA(9c, 11t)	0,73	0,79	0,80	0,61
8t, 10c; 7t, 9c	0,01	0,01	0,02	0,01
10c, 12t	0,04	0,04	0,05	0,04
11c, 13t	0,01	0,01	0,01	
10t, 12t; 9t, 11t, 8t, 10t; 7t, 9t	0,04	0,04	0,05	0,05
C20: 2	0,05	0,05	0,06	0,05
X1 CLA	0,04	0,04	0,04	0,02
C22: 0	0,05	0,05	0,08	0,07
C20: 3 n6	0,13	0,12	0,13	0,13
C20: 3 n3	0,01	0,01	0,03	0,01
C20: 4 n6	0,06	0,07	0,04	0,10
C23: 0	0,16	0,15	0,18	0,16
C24: 0	0,03	0,02	0,04	0,03
X9	0,03	0,02	0,02	0,02
X10	0,01	0,01	0,02	0,01
EPA	0,03	0,03	0,03	0,02
X11	0,24	0,25	0,19	0,14
Σ Alto PM	40,37	41,11	41,80	41,50

Tabella 3 - Sommatorie degli acidi grassi del latte delle 4 lavorazioni

	Lavorazione			
Σ Basso PM	8,11	7,44	8,26	8,06
Σ Medio PM	43,50	42,30	41,19	40,86
Σ Alto PM	40,37	41,11	41,80	41,50
Σ Saturi	60,42	60,08	60,30	59,81
Insaturi	31,81	29,95	30,21	29,88
Saturi/Insaturi	1,90	2,00	1,99	2,00
Σ ω-6	3,32	3,19	3,19	3,48
Σ ω-3	0,04	0,04	0,06	0,03
Σ ω-3/ω-6	0,01	0,01	0,02	0,01
Σ Acidi grasso dispari	2,13	2,09	2,07	1,92
Σ CLA	0,82	0,88	0,93	0,70

(0.04%) e ω-6 (3.28%) porta ad un rapporto (ω-3/ω-6) pari allo 0.01%. La concentrazione in CLA è risultata in media pari a 0.88% sul totale degli acidi grassi.

Caratteristiche chimico-fisiche e composizione in Acidi Grassi e CLA del Provolone del Monaco

In figura 1 viene illustrato l'andamento medio dell'acidità libera del formaggio durante la stagionatura. Il valore aumenta progressivamente dall'1.75% del primo mese al 2.25% del sesto mese di stagionatura. Questa evoluzione, essendo uguali le condizioni tecnologiche di lavorazione, potrebbe essere dovuto all'attività delle lipasi endogene nel corso della conservazione (8).

Dopo 6 mesi di stagionatura il formaggio presenta un tenore in grasso non inferiore al 25% ed un residuo secco superiore al 60%, valori conformi alle indicazioni del disciplinare di produzione.

In figura 2 è stata riportata la variazione della componente grassa, durante il periodo di conservazione, nelle tre zone di prelievo: sottocrosta (SC), parte intermedia (PI) e cuore (CU).

E' possibile osservare come la concentrazione in grasso tende ad aumentare nei primi due mesi di stagionatura. Successivamente nel terzo e quarto mese si assesta a valori costanti per la zona SC e PI mentre dal quarto mese assume un andamento crescente fino al sesto me-

Figura 1 - Andamento dell'acidità libera del grasso del Provolone del Monaco nel corso della stagionatura

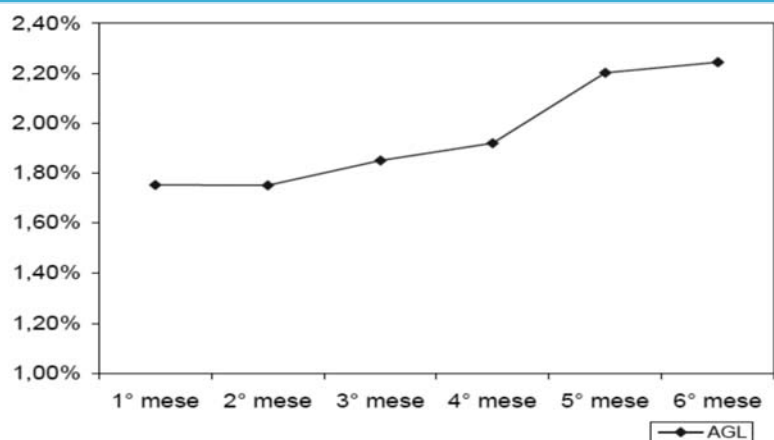


Figura 2 - Concentrazione in grasso (%) del formaggio nei tre punti di prelievo durante la stagionatura

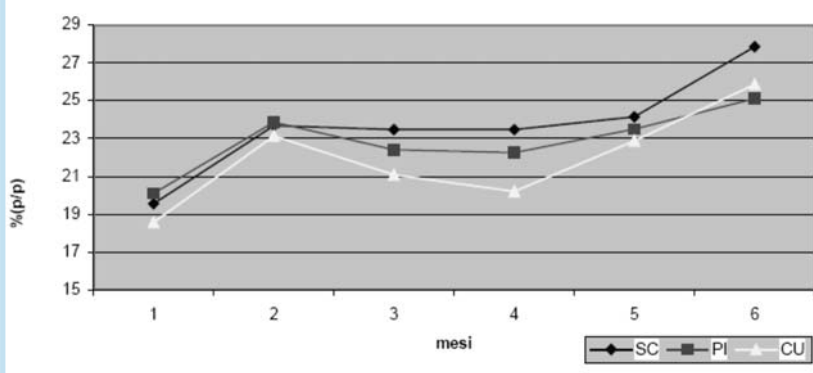


Tabella 4 - Sommatorie degli acidi grassi nelle tre zone di prelievo del formaggio durante la stagionatura

FAME	1° mese stagionatura			6° mese stagionatura		
	SC	PI	CU	SC	PI	CU
∑ LMW	7	7	6,8	8	8	8,1
∑ MMW	42,2	42,2	42,5	45,2	45,2	44,8
∑ HMW	41,1	41,7	41,9	38,4	39,4	38,6
∑ Saturated	60,8	59,6	59,3	63,8	62,6	62,6
∑ Unsaturated	29,5	29,5	29,4	27,06	27,67	27,13
∑ CLA	0,97	0,94	0,98	0,87	0,85	1,01
SAT/UNS	2,06	2,02	2,04	2,35	2,27	2,32

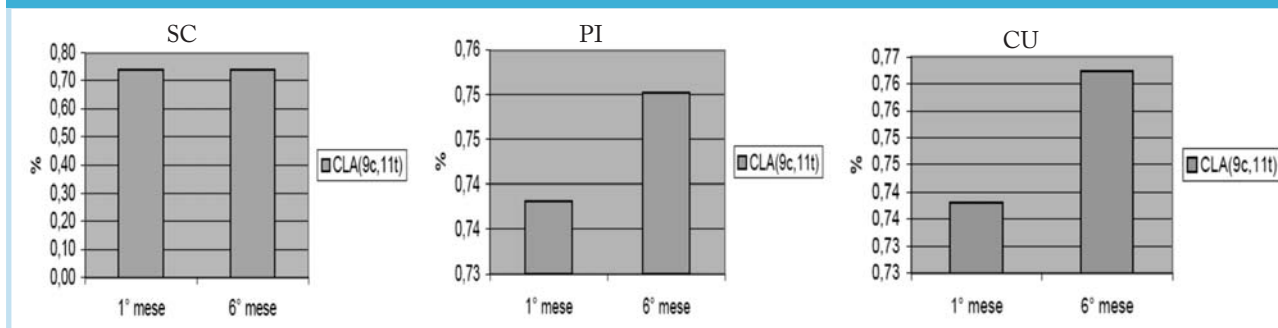
se di stagionatura nelle tre zone di prelievo.

La determinazione della composizione in acidi grassi effettuata via HRGC ha consentito di identificare 43 diversi acidi grassi, dall'acido butirrico (C4:0) all'acido eicosapentenoico (C20:5), compresi 6 isomeri dell'acido linoleico coniugato. Dal punto di vista statistico, non sono state riscontrate differenze significative né tra i diversi punti di prelievo di una stessa lavorazione, né tra le 4 lavorazioni. Nelle tre zone, prevalgono gli acidi grassi a medio peso molecolare (43%), dei quali il maggiore rappresentante è risultato l'acido palmitico (C16:0) con il 23% circa. La componente ad alto peso molecolare raggiunge il 41% nella zona SC, PI e CU, mentre quella a basso peso molecolare rappresenta circa l'8% come evidenziato in tabella 4.

La diminuzione della componente acidica ad alto peso molecolare al termine della stagionatura, è probabilmente causata dalla presenza delle lipasi gastriche, che si trovano nel caglio di capretto in pasta utilizzato per la produzione del Provolone del Monaco, le quali idrolizzano preferenzialmente acidi grassi a lunga catena (9).

È da notare in tabella 4 come il rapporto tra le concentrazioni degli acidi grassi saturi e insaturi tranne che nella zona SC sia paragonabile da primo al sesto mese di stagionatura. In figura 3 viene evidenziata l'evoluzione dell'isomero prevalente dei

Figura 3 - Evoluzione del CLA (9c,11t) nelle tre zone di prelievo tra il primo ed il sesto mese



CLA, 9-cis, 11-trans, tra il primo e il sesto mese. È stato osservato un suo incremento soprattutto nel cuore e nella parte intermedia, piuttosto che nel sotto crosta, nel corso dei 6 mesi di stagionatura.

Differenze significative ($P < 0,01$) sono state rilevate nel corso della stagionatura per gli isomeri t8,c10-CLA; t7,c9-CLA, le cui concentrazioni sommate oscillano tra lo 0.012% e lo 0.016% nel cuore e nella parte intermedia con un incremento del 25% durante il corso della stagionatura (Fig. 4).

Nel corso della stagionatura, il quantitativo medio di CLA, calcolato rispetto alla sostanza secca, oscilla tra 0.32 g/g e 0.38 g/100 g. Le principali variazioni quantitative tra il primo ed il sesto mese di stagionatura sono state osservate nella zona PI e CU del prodotto (Tab. 5).

Nel confronto degli acidi grassi omega-3 e omega-6 è stata osservata una tendenza all'aumento per gli omega-3 durante la stagionatura, con differenze statisticamente significative ($P < 0,01$) tra la zona del sotto crosta ($\Delta=22.7%$) e la zona inter-

media ($\Delta=45.5%$) come evidenziato in figura 5. Mentre per gli omega-6 è stata riscontrata una diminuzione in tutte e tre le zone di prelievo considerate, con variazioni percentuali del 15.6% per SC, 13.9% per PI e 19.5% circa per CU (Fig. 6).

Conclusioni

I risultati ottenuti hanno permesso di indicare al sesto mese di stagionatura del Provolone del Monaco i seguenti valori medi:

- acidità 1.8%;

Figura 4 - Concentrazione (%) degli isomeri t8, c10-CLA; t7, c9-CLA a inizio e fine stagionatura

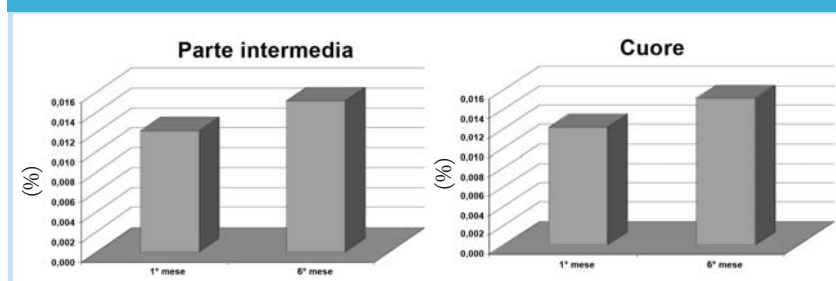


Tabella 5 - Contenuto in CLA (g/100 g ss) nelle tre zone di prelievo nel corso della stagionatura

	SC		PI		CU	
1° mese	0,32	0,26	0,35	0,30	0,33	0,28
6° mese	0,29	0,31	0,33	0,36	0,32	0,38
var%	Min	Max	Min	Max	Min	Max
	8,4	173,6	6,8	21,5	1,3	38,1

Figura 5 - Andamento degli acidi grassi omega 3 durante la stagionatura nel SC e PI

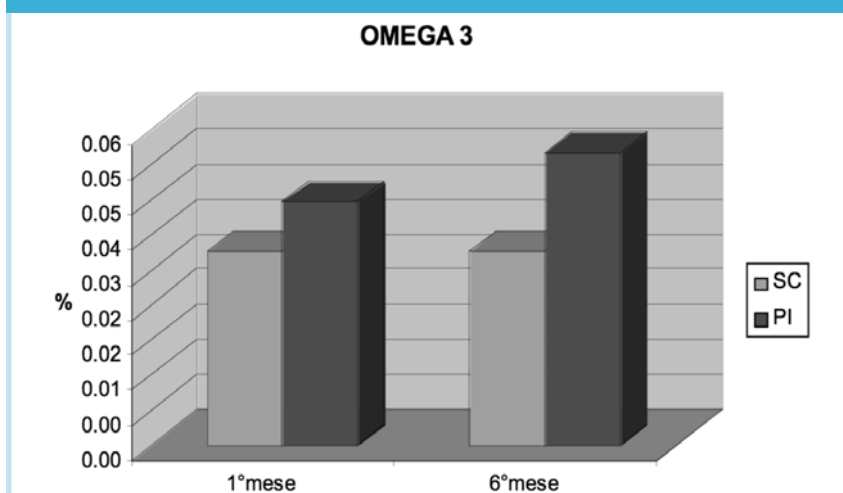
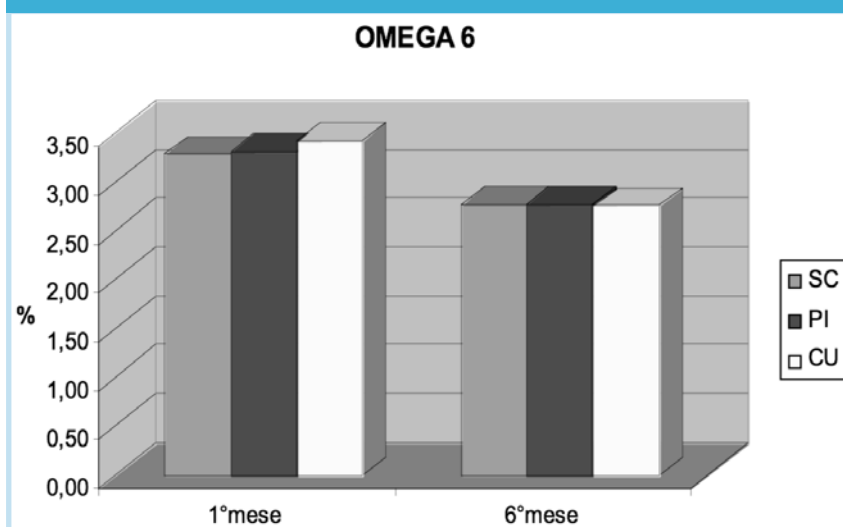


Figura 6 - Andamento degli acidi grassi omega 6 durante la stagionatura nelle tre zone di prelievo



- sostanza secca 60%;
 - grasso/ss 45%;
 utili per integrare la stesura del Disciplinare di produzione in vista dell'assegnazione della "Denominazione d'Origine Protetta".

La sperimentazione condotta sul Provolone del Monaco, utilizzando la gascromatografia ad alta risoluzione con colonna capillare da 100 metri (HRGC), ha permesso di valutare, dal un punto di vista qualita-

tivo e quantitativo l'evoluzione della componente acida del Provolone del Monaco, in funzione dell'epoca di stagionatura e della zona di prelievo.

Nel corso della stagionatura sono state riscontrate differenze statisticamente significative per gli acidi grassi a basso, medio ed alto peso molecolare. Tra i CLA, l'acido prevalente è risultato il 9-cis,11-trans, sia nelle tre zone di prelievo che nelle quattro lavorazioni. Tuttavia non sono state riscontrate differenze significative nel corso della stagionatura.

Il quantitativo in CLA varia tra lo 0.32 g/100 g ss del primo mese di stagionatura allo 0.38 g/100 g ss del sesto mese.

Gli unici isomeri dell'acido linoleico coniugato che hanno mostrato differenze significative nel corso della stagionatura sono stati t8,c10-CLA; t7,c9-CLA, ($\Delta=25\%$), osservate nel cuore e nella parte intermedia, ed imputabili probabilmente alla tipologia di microflora presente (10).

Bibliografia

1. Zicarelli L. Scienza e Tecnica lattiero-casearia 2004; 55: 167-8.
2. Decreto ministeriale 18 settembre 2003.
3. Progetto di valorizzazione dei prodotti lattiero-caseari della Penisola Sorrentina e dei Monti Lattari 1995.
4. Long JE, Harper WJ. Italian Cheese ripening. VI. Effects of different types of lipolytic enzyme preparations on the accumulation of various free fatty acids

- and free aminoacids and development of flavour in Provolone and Romano Cheese. *J Dairy Sci* 1956; 39: 245.
5. Prandini A, Geromin D, Conti F, Messoero F, Piva A, Piva G. Indagine sul livello di acido linoleico coniugato nei latticini. *Ital J Food Sci* 2001; 2: 13.
 6. Metodi Ufficiali di Analisi per i formaggi DM del 21 aprile 1986.
 7. Nota G, Spagna Musso S, Naviglio D, Romano R, Improta G. Idrolisi rapida degli esteri degli steroli dei grassi. *Rivista Italiana delle Sostanze Grasse* 1995; 7: 24-5.
 8. Romano R, Lambiase G, Spagna Musso S, Chianese L. La distribuzione quali-quantitativa della componente lipidica del latte indotta dal processo di lavorazione della Mozzarella di Bufala Campana. *Progress in Nutrition* 2004; 6 (4): 275-84.
 9. Coppola S, Ercolini D, Albano S. Ricerche preliminari sull'applicazione dell'analisi PCR-DGGE al rilevamento della microflora ricorrente nella preparazione del Provolone del Monaco. Tesi di laurea, 2001.
 10. Kepler CR, Tove SB. Biohydrogenation of linoleic acids. III. Purification and properties of a linoleate Δ^{12} cis, Δ^{11} -trans isomerase from *butyrivibrio fibrisolvens*. *Journal of Biological Chemistry* 1967; 242: 5686-92.