

**Relazione finale relativa alla collaborazione scientifica tra CREA-Centro di Ricerca Zootecnia e Acquacoltura e Consorzio Tutela Provolone Valpadana DOP per la “Determinazione di zuccheri residui (lattosio, glucosio e galattosio) nel formaggio Provolone Valpadana DOP” (PROZUC)**

Il Consorzio Provolone Valpadana DOP ha commissionato al CREA-Centro di ricerca Zootecnia e Acquacoltura (CREA-ZA) un'attività analitica per la quantificazione degli zuccheri residui nei suoi prodotti. In particolare, l'interesse del Consorzio era rivolto alla valutazione del contenuto di lattosio nel formaggio per poter apporre la dicitura “naturalmente privo di lattosio” come conseguenza “naturale” del tipico processo di fabbricazione del Provolone Valpadana DOP. In Italia, circolari del Ministero della Salute del 07/07/2015 e del 14/06/2016 pongono una soglia all'uso di tale dicitura in presenza di un residuo di lattosio inferiore a 0,1 g per 100 g di prodotto. Tuttavia, alcuni produttori, così come altri paesi europei, hanno ridotto tale valore in via prudenziale a 0,01 g per 100 g o mL di prodotto. La circolare del 14/06/2016 prevede che si riporti una indicazione del tipo “contiene galattosio”, come prodotto di scissione del lattosio, oppure nel caso sia possibile quantificare la soglia residua massima di tale zucchero, si utilizzi la dizione “contiene galattosio in quantità inferiori a...”, per un eventuale uso da parte dei galattosemici. Si è quindi concordato di quantificare il contenuto di lattosio, glucosio e galattosio in campioni di formaggio Provolone Valpadana DOP e cagliata.

Al fine di avere una campionatura rappresentativa della produzione, il Consorzio ha effettuato i prelievi presso 9 dei produttori consorziati, per un totale di 44 campioni così distribuiti:

- Cagliata prima della filatura (C ): 11 campioni
- Provolone Valpadana DOP della tipologia dolce, a 10 giorni di stagionatura (D/10): 11 campioni
- Provolone Valpadana DOP della tipologia dolce, a 60 giorni di stagionatura (D/60): 11 campioni
- Provolone Valpadana DOP della tipologia piccante, a 90 giorni di stagionatura (P/90): 11 campioni

Il Consorzio ha poi provveduto alla consegna dei campioni presso i laboratori di CREA-ZA, dove sono stati congelati a -20°C fino al momento dell'analisi.

Nella tabella sottostante sono riportate le codifiche dei campioni consegnati al CREA-ZA e tra parentesi le relative date di arrivo:

Prodotto	N° identificativo azienda								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
<b>C</b>	C/1 (28/2/25)	C/2 (28/2/25)	C/3 (28/2/25)	C/4 (28/2/25)	C/5 (28/2/25)	C/6 (7/3/25)	C/7 (7/3/25) C/7/2 (9/9/25)	C/8 (7/3/25) C/8/2 (9/9/25)	C/9 (7/3/25)
<b>D/10</b>	D/10/1 (28/2/25)	D/10/2 (28/2/25)	D/10/3 (28/2/25)	D/10/4 (28/2/25)	D/10/5 (28/2/25)	D/10/6 (7/3/25)	D/10/7 (7/3/25) D10/7/2 (9/9/25)	D/10/8 (7/3/25) D/10/8/2 (9/9/25)	D/10/9 (7/3/25)
<b>D/60</b>	D/60/1 (31/3/25)	D/60/2 (7/3/25)	D/60/3 (28/2/25)	D/60/4 (28/2/25)	D/60/5 (31/3/25)	D/60/6 (7/3/25)	D/60/7 (7/3/25) D60/7/2 (9/9/25)	D/60/8 (7/3/25) D60/8/2 (9/9/25)	D/60/9 (7/3/25)
<b>P/90</b>	P90/1 (31/3/25)	P90/2 (28/2/25)	P90/3 (28/2/25) P90/3/2 (9/9/25)	P90/4 (28/2/25)	P90/5 (28/2/25)	P90/6 (7/3/25)	P/90/7 (7/3/25) P/90/7/2 (9/9/25)	P/90/8 (7/3/25) P90/8/2 (9/9/25)	

(data di consegna)

Al momento dell'analisi i campioni di formaggio Provolone Valpadana DOP sono stati scongelati a temperatura ambiente e immediatamente triturati e analizzati.

L'analisi dei campioni è stata effettuata secondo la metodica UNI/TS 11687:2017, che prevede una fase di estrazione degli zuccheri dalla matrice, una purificazione dell'estratto su colonnina a scambio ionico per allontanare eventuali interferenti e il dosaggio degli zuccheri mediante cromatografia con detector amperometrico pulsato (HPAEC-PAD).

Il dosaggio di zuccheri residui ha riguardato il contenuto di lattosio, glucosio e galattosio. Le performance del metodo per la determinazione dei tre zuccheri nel formaggio sono le seguenti:

	galattosio (mg/100 g)	glucosio (mg/100 g)	lattosio (mg/100 g)
Limite di rilevabilità	0,14	0,16	0,25
Limite di quantificazione	0,27	0,26	0,41

Nella tabella seguente sono riportati i risultati relativi al contenuto in galattosio, glucosio e lattosio ottenuti dall'analisi HPAEC-PAD dei campioni di cagliata e formaggio Provolone Valpadana DOP forniti dal Consorzio.

Codifica campioni	Concentrazione (mg/100 g formaggio)		
	galattosio	glucosio	lattosio
C1	335,47	254,43	613,08
D10/1	269,28	3,26	<LOQ
D60/1	29,76	<LOQ	<LOQ
P90/1	39,40	0,89	<LOQ
C2	159,59	111,20	715,26
D10/2	2,54	<LOQ	<LOQ

D60/2	0,50	<LOQ	<LOQ
P90/2	0,32	<LOQ	<LOQ
C3	62,60	4,78	1,05
D10/3	0,59	0,36	<LOQ
D60/3	108,61	6,20	<LOQ
P90/3	0,28	0,26	0,72
P90/3/2	<LOQ	<LOQ	<LOQ
C4	660,36	20,95	104,87
D10/4	570,73	22,58	3,39
D60/4	386,57	17,76	0,91
P90/4	551,25	14,11	1,28
C5	431,00	370,31	15,75
D10/5	173,67	2,94	<LOQ
D60/5	70,46	2,31	0,44
P90/5	317,42	154,35	18,98
C6	436,96	198,76	204,38
D10/6	311,43	<LOQ	<LOQ
D60/6	0,93	<LOQ	<LOQ
P90/6	0,35	<LOQ	<LOQ
C7	425,15	369,98	304,79
C7/2	83,72	0,96	<LOQ
D10/7	70,19	1,49	71,98
D10/7/2	43,91	1,02	11,28
D60/7	1,85	0,47	0,58
D60/7/2	150,73	1,82	0,49
P90/7	1,64	0,41	0,58
P90/7/2	55,39	1,23	<LOQ
C8	408,11	295,17	879,56
C8/2	272,82	78,52	796,49
D10/8	374,90	20,39	<LOQ
D10/8/2	3,88	<LOQ	0,71
D60/8	247,74	17,63	<LOQ
D60/8/2	0,34	<LOQ	0,52
P90/8	0,80	0,51	1,01
P90/8/2	<LOQ	<LOQ	0,41
C9	306,77	296,20	1256,40
D10/9	456,96	32,99	<LOQ
D60/9	229,78	18,74	<LOQ

Per quanto riguarda l'andamento dei singoli zuccheri nelle diverse tipologie di prodotto, i dati sono stati rappresentati con box plot (di cui un esempio è riportato in Figura 1), grafici che consentono di visualizzare alcune variabili statistiche come la media e la mediana, la

dispersione dei valori (l'altezza della scatola è pari al range che racchiude il 50% centrale delle osservazioni effettuate, comprese tra il 1° e il 3° quartile, mentre i "baffi" visualizzano le code della distribuzione) e potenziali outliers, valori anomali isolati, che si discostano significativamente dalla popolazione analizzata.

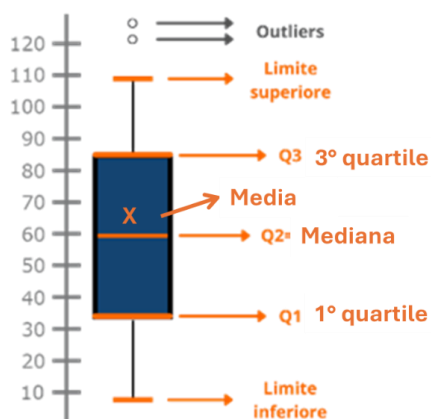


Figura 1: Esempio di box plot

Per il lattosio, si può osservare che la cagliata ne contiene un quantitativo piuttosto elevato ma molto variabile (Figura 2), con un valore medio di  $444,73 \pm 409,47$  mg/100g e un valore massimo di 1256 mg/100g.

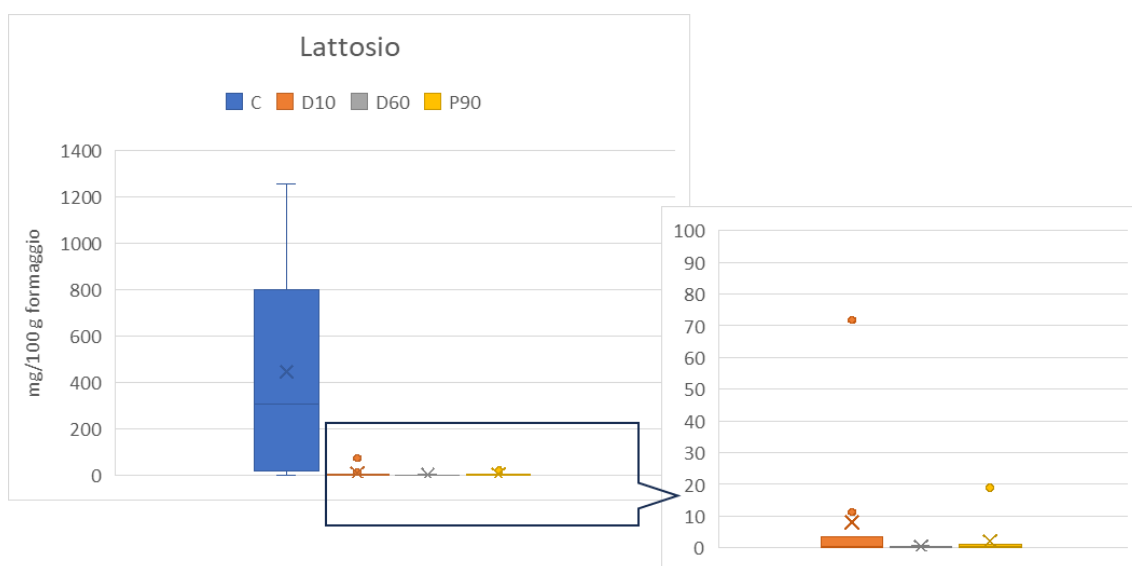


Figura 2: A sinistra, box plot relativo al contenuto di lattosio in campioni di cagliata, Provolone Valpadana DOP dolce a 10 e 60 giorni di stagionatura e Provolone Valpadana DOP piccante a 90 giorni. Nel grafico a destra è stata ingrandita la porzione relativa ai

campioni di Provolone Valpadana DOP dolce e piccante per meglio visualizzare la distribuzione dei dati.

Tuttavia, questi valori si riducono rapidamente durante le prime fasi della maturazione, e infatti in tutte le tipologie di formaggio analizzate il contenuto di lattosio risulta al di sotto del valore di 0,1 g/100g, indicato dal Ministero della Salute quale limite per poter apporre la dicitura “naturalmente privo di lattosio” (Figura 2). Si evidenzia, inoltre, come la maggior parte dei campioni presenti valori anche al di sotto di 0,01 g/100g di prodotto. Fanno eccezione due campioni della tipologia dolce a 10 giorni di maturazione con un contenuto di lattosio di 11 e 72 mg/100g e uno della tipologia piccante a 90 giorni con un contenuto di 19 mg/100g.

Dalla degradazione del lattosio si liberano i suoi costituenti glucosio e galattosio, che vengono a loro volta metabolizzati con modalità diverse a seconda della microflora presente. Come atteso, il glucosio, piuttosto abbondante nella cagliata (media 181,93 ± 137,51 mg/100g) viene rapidamente consumato in tutte le tipologie di prodotto (Figura 3). Un dato anomalo riguarda un campione della tipologia piccante a 90 giorni di maturazione che ha un quantitativo di glucosio pari a 154 mg/100g. Poiché lo stesso campione (P/90/5) presentava anche un quantitativo di lattosio anomalo per questa tipologia, il dato lascia pensare a qualche problematica nel processo di maturazione.

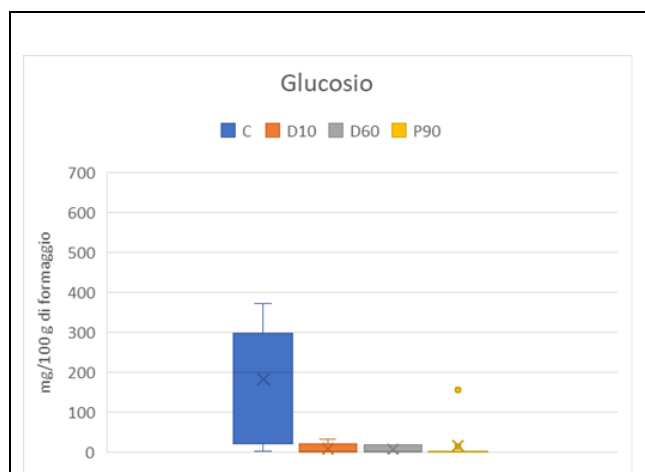


Figura 3: Box plot relativo al contenuto di glucosio in campioni di cagliata, Provolone Valpadana DOP dolce a 10 e 60 giorni di stagionatura e Provolone Valpadana DOP piccante a 90 giorni.

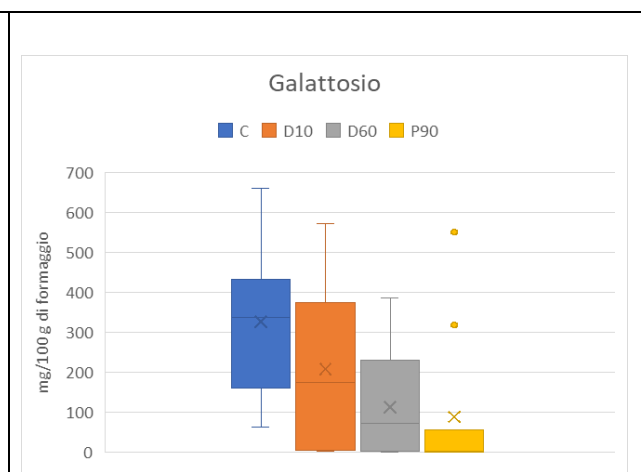


Figura 4: Box plot relativo al contenuto di galattosio in campioni di cagliata, Provolone Valpadana DOP dolce a 10 e 60 giorni di stagionatura e Provolone Valpadana DOP piccante a 90 giorni.

Per quanto riguarda il galattosio, invece (Figura 4), il contenuto piuttosto elevato nella cagliata ( $325,69 \pm 168,08$  mg/100g) diminuisce più lentamente nei formaggi, con una maggiore dispersione dei valori all'interno di ciascuna classe di prodotto. In particolare, si osservano valori elevati di galattosio in prodotti riconducibili ad alcuni specifici produttori, come ad esempio l'azienda 4. Ciò può essere indice della selezione di una microflora nella pasta che non è in grado di metabolizzare questo zucchero, che quindi si accumula.

In conclusione, dai dati ottenuti si può affermare che il formaggio "Provolone Valpadana DOP", nelle diverse tipologie, si può fregiare della dicitura "naturalmente privo di lattosio", con l'aggiunta della dichiarazione "contiene galattosio" a tutela delle persone affette da galattosemia.