

Conservanti nei formaggi. Qual è il limite massimo per l'acido benzoico?

di Marco Iammarino, Aurelia Di Taranto

Dipartimento di Chimica dell'Istituto Zooprofilattico Sperimentale di Puglia e Basilicata

Una ricerca, finanziata dall'ex ministero della Salute, ha individuato in 40 mg/kg la concentrazione massima di acido benzoico che si può ammettere nei prodotti lattiero – caseari dichiarati senza conservanti

L'acido benzoico ed i suoi sali (benzoati) rientrano nella categoria dei conservanti. Sono indicati con le sigle da E210 a E219 e esplicano un'attività antimicrobica attraverso un meccanismo di inibizione degli enzimi ossiglutarato deidrogenasi e succinato deidrogenasi del ciclo di Krebs, e di alcuni enzimi coinvolti nella fosforilazione ossidativa.

Possono essere aggiunti a svariati prodotti alimentari, dai prodotti a base di pesce ai brodi di carne, dalle salse (maionese, senape) alle bibite gasate, dagli ovoprodotti ai prodotti a base di frutta e ortaggi.

Per ciascuno di questi prodotti, la legislazione vigente prevede uno specifico limite di impiego, che può variare dai 150 mg/l relativo alle bibite gasate ai 5000 mg/kg relativo agli ovoprodotti.¹

Si tratta di limiti di impiego abbastanza elevati, in quanto l'acido benzoico e i benzoati non possono essere considerati additivi particolarmente pericolosi per la salute umana.

Secondo diversi autori, infatti, l'acido benzoico è un prodotto innocuo alle dosi di impiego e non presenta problemi di accumulo, in quanto viene completamente eliminato con le urine sotto forma di acido ippurico.

Secondo l'Organizzazione Mondiale della Sanità (FAO/OMS), è ipotizzabile un limite di tossicità giornaliero di 5 mg/kg (ad esempio, da 300 a 400 mg per soggetti da 60 a 80 kg di peso corporeo)

Alle dosi giornaliere ritenute accettabili (300-400 mg nell'adulto) l'acido benzoico non presenta problemi di tossicità, salvo alcuni occasionali fenomeni allergici in soggetti sensibili al principio attivo, quali riniti, orticarie, dermatiti.

Sovradosaggi, a partire da 1000 mg al giorno per 5 giorni consecutivi, causano nausea, mal di testa, astenia, bruciori esofagei.

¹ Decreto ministeriale n. 209 del 27 febbraio 1996 e successive modiche, allegati XI e XII.

L'acido benzoico e i benzoati, essendo composti intermedi biologicamente attivi nella sintesi di altre sostanze² possono essere naturalmente presenti in molti prodotti alimentari, sia di origine vegetale che di origine animale, ivi compresi i prodotti lattiero – caseari.³

Proprio nei prodotti lattiero – caseari (fatta eccezione per latte acidulato, latte acidificato, yogurt, kefir e latticello, per i quali è previsto un limite d'impiego di 300 mg/kg) sorge un'incongruenza: l'attuale normativa non consente l'additivazione di acido benzoico e/o benzoati.

Tale incongruenza può causare l'errata interpretazione di alcuni risultati relativi alle ispezioni effettuate su questa categoria di prodotto. Ovvero, sussistendo per gli organi preposti al controllo l'obbligo di denuncia di esito sfavorevole ai sensi dell'art.15 comma 4 del suddetto decreto ministeriale 209/96, si può considerare come "positivo" un campione che, in realtà, non è mai stato addizionato con alcun conservante e che, al massimo, può essere stato prodotto e/o conservato in condizioni non ideali, ma tali da non comprometterne la sicurezza igienico-sanitaria.

Obiettivi

Al fine di risolvere tale equivoco e colmare quella che si può considerare a tutti gli effetti una lacuna legislativa, è stato proposto e svolto un progetto di ricerca volto a definire, anche per l'acido benzoico, un limite di legge al di sotto del quale non sussista l'obbligo di denuncia, alla stregua di quanto già fatto per nitrati e nitriti nelle carni fresche⁴ e di quanto si sta tuttora studiando per altri additivi "naturalmente" presenti in diversi prodotti alimentari.

² Goodwin B.L., "Handbook of intermediary metabolism of aromatic compounds", New York, 1976, NY, Wiley & Sons, pp. B6-B9.

³ Sieber R., Bütikofer U., Bosset J.O., Rüegg M., "Benzoessäure als natürlicher Bestandteil von Lebensmitteln- eine Übersicht", 1989, Mitteilungen aus dem Gebiete der Lebensmitteluntersuchung und Hygiene, 80, pp. 345-362. Bollettino dei Chimici Igienisti, vol. 47, 1996, pag. 279.

Materiali e Metodi

Al fine di stimare correttamente tale livello massimo accettabile, si è determinato l'acido benzoico (come ione benzoato) mediante una tecnica innovativa in HPLC di scambio ionico, validata dal dipartimento secondo il regolamento CE 882/2004. Con questa procedura, l'acido benzoico viene estratto, purificato e determinato analiticamente come ione benzoato.

Le tecniche dello scambio ionico si ottiene utilizzando materiali solidi impaccati (fasi fisse), ai quali sono fissati gruppi ionizzati o ionizzabili. Naturalmente, per mantenere il bilancio di carica, le cariche di ciascun gruppo legato allo scambiatore sono bilanciate dai controioni, ossia dagli ioni con carica opposta scambiabili.

Per esempio, la struttura dello scambiatore anionico utilizzato per l'analisi dei benzoati consta di gruppi trimetilammonio con una carica positiva, fissati sulla matrice, con controione OH⁻.

Per quanto riguarda la tecnica di rivelazione, è stato impiegato un rivelatore elettrochimico conduttimetrico, ovvero il rivelatore tipico per le analisi di specie ioniche, separate per scambio ionico. Riassumendo, il sistema cromatografico a disposizione per questa ricerca è stato un cromatografo ionico Dionex DX500, equipaggiato con colonna Ion Pac AS11 4 x 250 mm, soppressore ASRS ultra II self-regenerating, software e PC per l'elaborazione dei dati.

⁴ Iammarino M., Muscarella M., Di Taranto A., Palermo C. "Indagine sulla presenza di nitrati e nitriti in carni fresche" – Atti LIX Convegno Nazionale della Società Italiana delle Scienze Veterinarie, Viareggio, 21-24 settembre 2005.

Non è possibile escludere a priori la presenza "naturale" di acido benzoico in nessuna tipologia di formaggio

L'eluizione è stata impostata in gradiente con due fasi mobili a diversa concentrazione di NaOH. Per quanto concerne le fasi di estrazione e purificazione dei campioni, dopo la fine omogeneizzazione dei formaggi e la susseguente pesata mediante bilancia analitica, è stata effettuata l'estrazione dei benzoati con acqua ultrapura, utilizzando il vortex per un minuto. La miscela così ottenuta è stata quindi filtrata prima con filtri da 0.8 µm, poi con filtri da 0.2 µm ed è stata iniettata in loop da 25 µl. I campioni risultati "positivi" per acido benzoico sono stati confermati con altre due tecniche analitiche HPLC, una, sempre in cromatografia ionica, ma con diverso meccanismo di scambio ionico e l'altra in HPLC a fase inversa e rivelatore UV-DAD. L'analisi è stata effettuata su 100 campioni di formaggio a composizione nota, ovvero senza aggiunta di acido benzoico. Nella scelta sulle tipologie di formaggio da analizzare si è cercato di selezionare campioni che potessero rappresentare efficacemente il vasto panorama di prodotti esistente sul mercato e, dunque, sono stati analizzati formaggi a diversi tempi di maturazione, passando dall'analisi di formaggi freschi a quelli a pasta molle, a pasta filata, a pasta dura e così via. Sono stati presi in considerazione formaggi provenienti da diverse aree geografiche italiane e prodotti con latte vaccino, pecorino e misto.

Risultati

Sono stati analizzati complessivamente 100 campioni di formaggi caratterizzati da tecnologie di lavorazione, materie prime e luoghi di produzione diversi tra loro. Per una più semplice interpretazione dei risultati ottenuti, tali formaggi sono stati suddivisi in sette categorie e precisamente in: formaggi a pasta dura cotta a maturazione lenta (17 campioni), formaggi grattugiati preconfezionati (12 campioni), formaggi a pasta dura cotta a maturazione media (16 campioni), formaggi a pasta filata a maturazione media (17 campioni), formaggi a pasta filata a maturazione rapida (14 campioni), formaggi a pasta dura cruda a maturazione media (9 campioni) e formaggi freschi a maturazione rapida (15 campioni). La vasta gamma di campioni analizzati ci permette di poter trarre conclusioni valide per la maggior parte di formaggi reperibili sul mercato. I dati relativi alle analisi effettuate, espressi sia in termini di percentuale di presenza di acido benzoico sul totale di campioni analizzati che in termini di concentrazione media riscontrata sui campioni "positivi", sono riassunti in *Tabella 1*. Il primo dato da sottolineare è quello della possibile presenza di acido benzoico in ciascuna delle sette categorie di formaggi analizzati: infatti, è stato registrato sempre almeno un positivo per

ogni categoria. Pertanto, non è possibile escludere a priori la presenza "naturale" di acido benzoico in nessuna tipologia di formaggio, sia che questo venga prodotto con latte crudo o pastorizzato, che sia a maturazione rapida, media o lunga o che venga prodotto da latte vaccino o pecorino. Si ipotizza, pertanto, che la formazione di acido benzoico possa derivare da fattori comuni a tutte le tipologie di formaggio; tale sviluppo non appare facilmente controllabile, dato che può presentarsi a prescindere dalla tecnologia di produzione e dalle caratteristiche della materia prima. Saranno dunque necessari studi futuri più approfonditi per ricercare sia le cause che le modalità di prevenzione e/o limitazione di questo sviluppo. I risultati ottenuti ci hanno permesso di ottenere alcune importanti informazioni, utili per eventuali studi futuri sul meccanismo di formazione dell'acido benzoico nei formaggi. In particolare, studiando i dati ottenuti, è possibile mettere in evidenza una relazione tra concentrazioni riscontrate, percentuale di "positivi" e tipologia di formaggio. Si è notato come lo sviluppo di acido benzoico sia più probabile nei formaggi a pasta cruda che non su quelli a pasta filata o cotta. Si può quindi ragionevolmente ipotizzare che i trattamenti termici possano inibire la formazione di questo composto, in quanto possono indurre nel prodotto una stabilizzazione microbiologica e/o una inattivazione enzimatica. A parità di trattamento termico effettuato, si è notato anche come lo sviluppo di acido benzoico sia tanto maggiore quanto più lunghi sono i tempi di maturazione del formaggio; questo dato lascia supporre che la presenza di acido benzoico nei formaggi sia dovuta a fenomeni di maturazione del prodotto, probabilmente indipendenti dall'origine e dalla tipologia di materia prima. Sul totale di 100 campioni analizzati, in 18 casi è stata riscontrata presenza di acido benzoico superiore ai limiti di rivelabilità del metodo (5 mg/kg) e precisamente su due formaggi a pasta dura cotta a maturazione lenta, su tre formaggi grattugiati preconfezionati, su un formaggio a pasta dura cotta a maturazione media, su tre for-

maggi a pasta filata a maturazione media, su un formaggio a pasta filata a maturazione rapida, su cinque formaggi a pasta dura cruda a maturazione media e su tre formaggi freschi a maturazione rapida. Dunque, la presenza di acido benzoico in almeno uno dei campioni appartenenti alle sette categorie analizzate fa sì che la presenza "naturale" di questo composto non possa essere esclusa da nessuna tipologia di formaggio. La concentrazione media registrata sui campioni

La presenza di acido benzoico è più frequente nei formaggi a pasta cruda che non su quelli a pasta filata o cotta

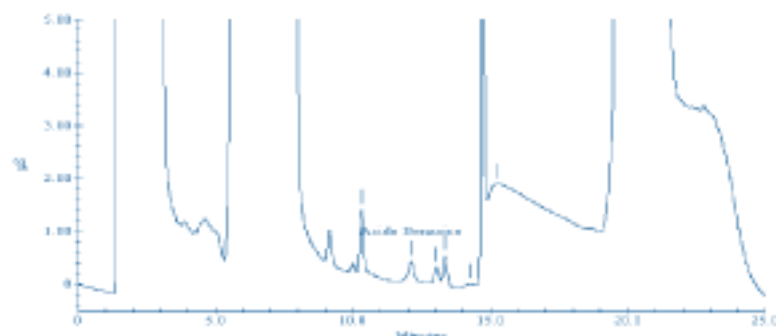
Tabella 1
Risultati ottenuti sui 100 campioni di formaggio analizzati

Tipologia di formaggio	N° campioni analizzati	% positività acido benzoico	Concentrazione media (mg/kg) acido benzoico*
Pasta dura cotta (maturazione lenta)	17	11,8	11,6
Grattugiato preconfezionato	12	25,0	22,3
Pasta dura cotta (maturazione media)	16	6,3	20,3
Pasta filata (maturazione media)	17	17,6	24,7
Pasta filata (maturazione rapida)	14	7,1	22,2
Pasta dura cruda (maturazione media)	9	55,6	20,2
Fresco a maturazione rapida	15	20,0	22,2

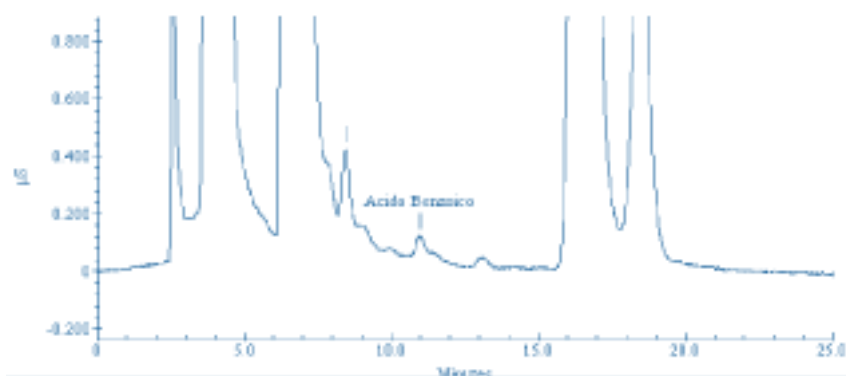
* Media calcolata sui soli campioni "positivi"



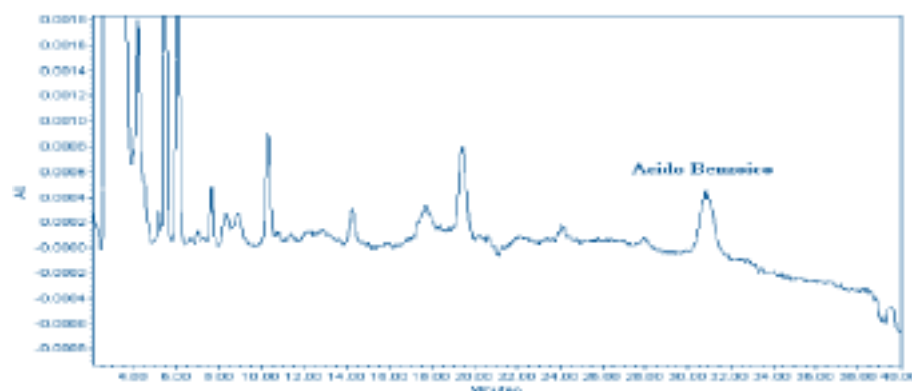
Figura 1
Cromatogrammi relativi all'analisi di un formaggio con acido benzoico



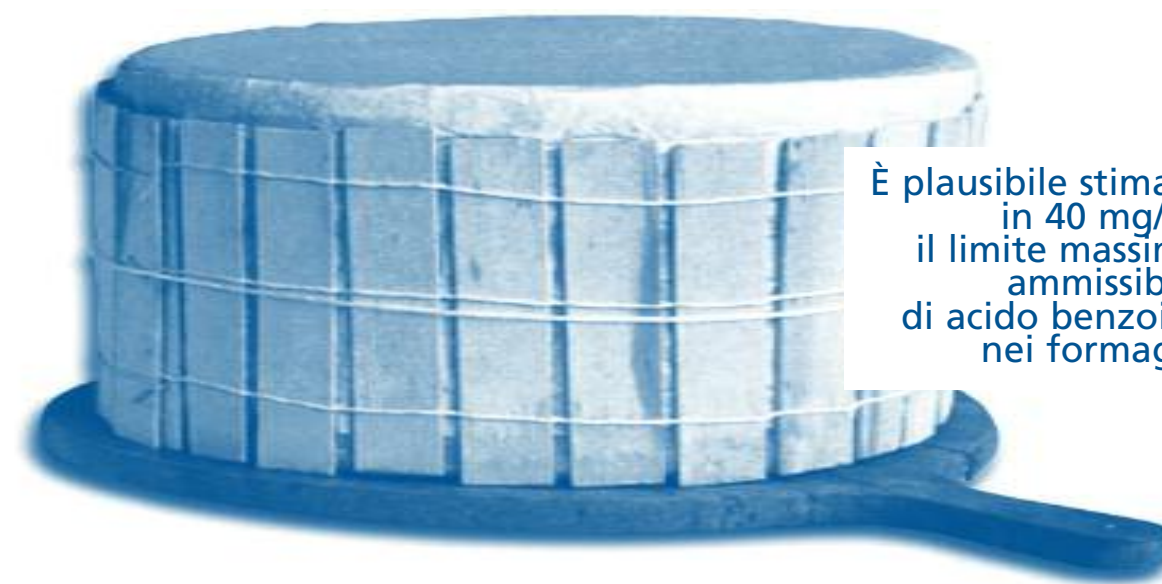
Cromatografia ionica a scambio forte (metodica validata)



Cromatografia ionica a scambio debole (metodica di conferma 1)



Cromatografia liquida a fase inversa e rivelazione UV-DAD a 275 nm (metodica di conferma 2)



È plausibile stimare
in 40 mg/kg
il limite massimo
ammissibile
di acido benzoico
nei formaggi

“positivi” è stata pari al 20.5 mg/kg, con un valore massimo pari a 28.7 mg/kg riscontrato in un formaggio a pasta dura cruda a maturazione media: considerata la distribuzione e l'entità delle concentrazioni rilevate, è plausibile stimare in 40.0 mg/kg il limite massimo ammissibile di acido benzoico nei formaggi.

Nel caso in cui tale valore venga inserito come limite nella legislazione vigente, gli enti preposti al controllo ufficiale degli alimenti non dovrebbero quindi procedere a denunce di alcun tipo nel caso vengano riscontrate concentrazioni inferiori a tale valore; questo in quanto concentrazioni così basse non derivano dall'aggiunta di alcun additivo, ma da una naturale formazione endogena dovuta presumibilmente a particolari meccanismi biochimici che avvengono durante le fasi di maturazione del formaggio (cfr. Figura 1).

Conclusioni

Il presente lavoro di ricerca, grazie all'analisi di 100 campioni di formaggi di diversa tipologia, composizione ed origine, volte alla determinazione quali – quantitativa dell'acido benzoico, ci ha permesso di giungere alle seguenti conclusioni:

- la formazione spontanea di acido benzoico

può avvenire in qualunque tipologia di formaggio, a prescindere dalla tecnologia di produzione, dal tipo di latte e dalla zona di produzione;

- eventuali trattamenti termici effettuati nelle fasi di produzione possono rallentare e/o inibire la formazione di acido benzoico;
- la formazione di acido benzoico è tanto più accentuata quanto più lunghi sono i tempi di maturazione del formaggio;
- considerata la distribuzione delle concentrazioni riscontrate nei campioni “positivi”, è plausibile stimare in 40 mg/kg il limite massimo ammissibile di acido benzoico nei formaggi, ovvero quel valore al di sotto del quale non sussiste obbligo di denuncia da parte degli Enti preposti al controllo ufficiale dei prodotti alimentari.

Si ringrazia il ministero della Salute (ndr: oggi ministero del Lavoro, della Salute e delle Politiche sociali) per il supporto finanziario offerto, mediante i fondi di ricerca 2007, per lo svolgimento di questo progetto di ricerca.