



# VALUTAZIONE DI UN METODO RAPIDO PER IL TRATTAMENTO TERMICO DEL LATTE: TEST DELLA $\epsilon$ -FRUTTOSIL-LISINA

Vatteroni C., Manghi P., Gandolfi I., Cagnasso P.-Ricerca&Sviluppo Lab.Centrale PARMALAT S.P.A-Via S.Vitale, 22 Sala Baganza (PR)  
Bonicolini F., Bicchiega M.- cdR Analisi e sviluppo sistemi cibernetici. Settore biochimico. Arezzo (Italy)

## Introduzione



L'obiettivo primario dell'industria è la qualità dell'alimento che, per essere costantemente garantita e migliorata, richiede la valutazione della sicurezza igienico-sanitaria (sicurezza microbiologica, assenza di microinquinanti ambientali, ecc.), della naturalità (assenza di sofisticazioni) e del valore nutrizionale.

In particolare, per valutare l'aggiunta di latte in polvere a latte crudo o pastorizzato o gli effetti dei trattamenti termici applicati, vengono utilizzati diversi indici analitici quali la furosina e il lattulosio (1,2).

Si tratta di molecole quantificabili con metodi HPLC, la cui determinazione richiede lunghi tempi di analisi, strumentazione sofisticata, personale qualificato.

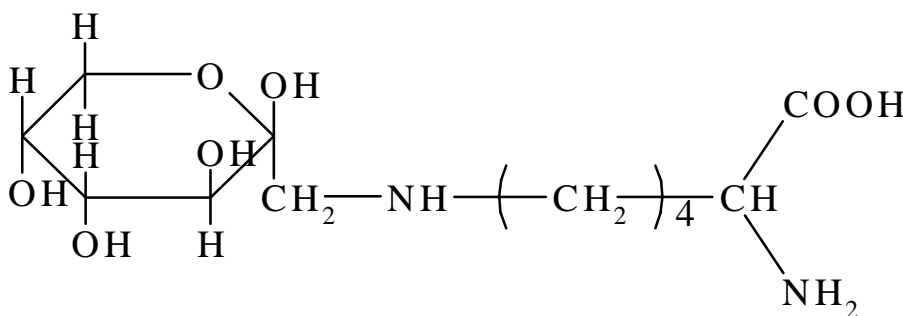
Si è quindi posta l'attenzione verso lo sviluppo di metodi rapidi, utilizzabili in produzione e in laboratori non attrezzati, correlabili a quelli classici, presi come riferimento.

In questo lavoro viene valutata l'affidabilità e l'applicabilità del test della fruttosil-lisina, presentato al Congrilait 2002 di Parigi, che dovrebbe fornire in maniera rapida le stesse informazioni della furosina (3).

La fruttosil-lisina è un prodotto della Reazione di Maillard, che si origina in uno step precedente alla liberazione della furosina, ottenuta invece per idrolisi acida.



## Test della fruttosil-lisina: generalità



- Tempo di analisi: 7-8 minuti
- Semplicità → utilizzabile in produzione e in laboratori attrezzati in modo non sofisticato  
→ utilizzabile anche da personale non specializzato
- Utilizza latte tal quale
- Utilizza reagenti pronti all'uso e cuvette usa e getta
- Lo strumento non necessita di manutenzione
- Ripetibilità: crudo → CV% = 5,9%  
pastorizzato → CV% = 6,0%  
uht → CV% = 5,8%

## Materiale e metodo

- Sistema fotometrico CDR
- Cuvette uso e getta
- Reattivo colorimetrico 'R2'
- Micropipette da 150ul e 100 ul



Il principio del metodo si basa su una reazione redox, in cui un sale di tetrazonio, in un mezzo alcalino, reagisce con la fruttosil-lisina, formando un complesso violetto, la cui intensità, letta a 545 nm, è proporzionale alla concentrazione di fruttosil-lisina.

Il test rapido e semplice si applica direttamente al latte tal quale: una cuvetta contenente 150 ul di latte, viene preriscaldata per 5 minuti a  $T=37\text{ }^{\circ}\text{C}$  nel comparto dedicato ('incubation cells'); si aggiungono 100 ul di reattivo R2 e si attende 1 minuto per la lettura della misura, espressione della cinetica di reazione.

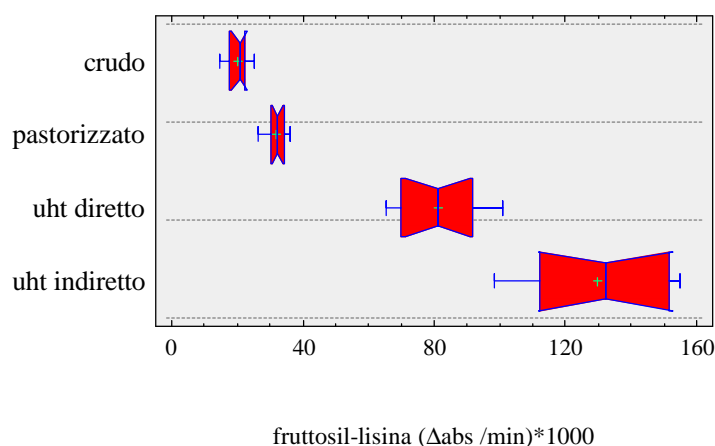
Sono stati analizzati latti interi di produzione Parmalat e del commercio: crudi, pastorizzati, UHT e latte in polvere ricostituito aggiunto in diversi tagli a latte intero pastorizzato.

Su questi campioni sono stati eseguiti il test della fruttosil-lisina e l'analisi della furosina in HPLC (4).

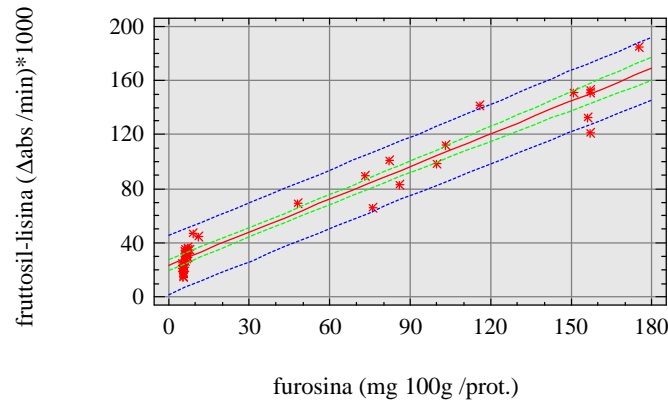
## Risultati

Per verificare se il test della fruttosil-lisina può essere utilizzato come test di screening preliminare per distinguere i principali tipi di trattamento termico (pastorizzazione, UHT diretto, UHT indiretto) sono state eseguite determinazioni in parallelo di furosina e fruttosil-lisina su latti crudi, latti pastorizzati interi e latti UHT interi. I risultati sono stati trattati con la statistica non parametrica, visto il numero non consistente di campioni e visto che il test di Cochran ha rilevato una differenza statisticamente diversa tra le deviazioni standard con un livello di confidenza del 95%, condizione che potrebbe inficiare la maggior parte dei test statistici parametrici (F-test....).

Si è quindi utilizzato, sia nel caso dei dati relativi alla fruttosil-lisina che della furosina, il test di Kruskal-Wallis, che considera l'eventuale presenza di differenze significative tra mediane: il test in entrambi i casi ha evidenziato una differenza significativa tra le mediane dei 4 gruppi di trattamento termico (crudo, pastorizzato, UHT diretto, UHT indiretto). Questo risultato è ben espresso dal grafico Box e Whisker (si riporta quello relativo alla fruttosil-lisina): il test della fruttosil-lisina permette, come la furosina, la discriminazione tra i diversi tipi di trattamento termico; si nota inoltre come le code delle distribuzioni possono a volte sovrapporsi (crudo-pastorizzato, UHT diretto-UHT indiretto): questo è dovuto a parametri di trattamento variabili in funzione delle caratteristiche dei singoli impianti e delle esigenze produttive.

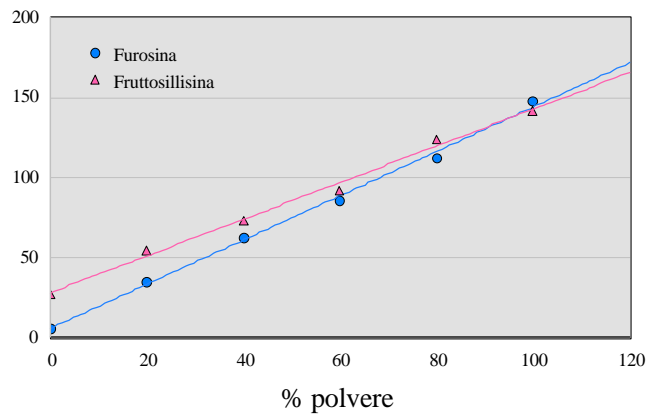


E' stata valutata la correlazione tra il test della fruttosil-lisina e la furosina: si è osservata una buona correlazione espressa da un  $R^2$  pari a 0.95



E' stata inoltre verificata la linearità del test della fruttosil-lisina all'aggiunta di quantità crescenti di polvere di latte a latte intero pastorizzato.

Come per la furosina si ha un buon andamento lineare ( $R^2_{\text{furosina}} = 0,997$  ,  $R^2_{\text{fruttosil-lisina}} = 0,993$  ).



## Conclusioni

Dai risultati preliminari si è concluso che il test della fruttosil-lisina può essere considerato, come la furosina, un parametro in grado di discriminare le diverse classi di latte di interesse per la nostra industria. In futuro sarà approfondito lo studio per la classe dell'UHT per riuscire a monitorare in modo rapido il rispetto degli standards qualitativi di produzione.

Il test della fruttosil-lisina può essere utilizzato per rivelare eventuali aggiunte di latte in polvere a latte crudo; i dati preliminari dimostrano che il test riesce ad individuare l'aggiunta del 10% di polvere .

I risultati verranno confrontati su di un maggiore numero di campioni di prove per poi costruire carte di controllo, allo scopo di individuare ed impedire frodi sulla materia prima in ingresso agli stabilimenti.

Analogo studio verrà eseguito sui latti parzialmente scremati.

## Bibliografia

- (1) Pellegrino L. Resmini P. (Italy) Luf W. (Austria). - Assessment(indices) of heat treatment of milk. *Heat-Induced Changes in milk, FIL-IDF, second edition, revision of Bulletin 238/1989*, 20chapter.
  - (2) Pellegrino L., De Noni I. Resmini P. - Coupling of lactulose and furosine indices for quality evaluation of sterilized milk. *Int.Dairy Journal*, **5**, 647-659, (1995).
  - (3) Bonicolini F., Bicchiera M. - Maillard reaction evaluation by e-fructosyl-lysine during milk thermal processing: first step. *Congrilaite 2002 Paris*(4) Resmini P., Pellegrino L. and Battelli G. - Accurate quantification of furosine in milk and dairy products by direct HPLC method *Ital.J.Food Sci.*, **n.3**, - 1990.
- Toppino P.M.: Per valutare l'entità di furosina. *Riv.Latte*, 50,2143 (1994).