

PROGETTI DI RICERCA CORRENTE 2016

N. identificativo progetto: IZSLT 06/16 RC

Progetto presentato da:

**ISTITUTO ZOOPROFILATTICO SPERIMENTALE
Lazio e Toscana "M. Aleandri"**

Area tematica: Sicurezza alimentare

Titolo del progetto:

Attività della fosfatasi alcalina nel latte di pecora, capra e bufala in relazione al trattamento termico di pastorizzazione: studio sperimentale per un limite di conformità.

Responsabile Scientifico: Dr. Gilberto Giangolini

SINTESI

Attività della fosfatasi alcalina nel latte di pecora, capra e bufala in relazione al trattamento termico di pastorizzazione: studio sperimentale per un limite di conformità.

Parole chiave: latte, fosfatasi alcalina, ovini, caprini, bufalini

La fosfatasi alcalina (ALP) nel latte è utilizzata come prova per la verifica della corretta pastorizzazione del latte. Il Reg. EC 1664/2006 stabilisce il limite dell'attività dell' ALP in latte pastorizzato bovino a $350 \text{ mU} \cdot \text{L}^{-1}$ mentre per il latte ovino, caprino e bufalino non è stato stabilito un limite di riferimento. Il trattamento di pastorizzazione del latte è eseguito in genere alla temperatura di 72°C per 15 secondi. Nel Regolamento (CE) n. 1662/2006 della Commissione del 6 novembre 2006 si specifica anche l'equivalenza del trattamento termico di 63°C per 30 minuti (LTLT - low temperature long time).

La presente ricerca si propone di studiare il range dell'attività fosfataseica nel latte crudo e pastorizzato di pecora, capra e bufala, durante l'arco della lattazione. Si propone inoltre di indagare sui fattori che possono influenzare i contenuti in fosfatasi alcalina nel latte crudo e pastorizzato.

I campioni di latte di massa sono stati prelevati in 20 aziende ovine, 16 caprine e 21 bufaline. In totale sono stati prelevati 1179 campioni di latte crudo (293 ovini, 401 caprini e 485 bufalini) da novembre 2017 a marzo 2020.

E' stata eseguita la determinazione dell'attività della fosfatasi alcalina nei campioni di latte crudo ed eseguita la pastorizzazione degli stessi campioni a $63^\circ\text{C} \pm 0.5^\circ\text{C}$ per 30 minuti e quindi determinata ALP nel latte pastorizzato. La pastorizzazione e la determinazione della fosfatasi alcalina è stata eseguita in laboratorio (U.O.1) su un totale di 868 campioni di latte: 290 ovini (33.4%), 157 (18.1%) caprini e 421 (48.5%) bufalini.

La Fosfatasi alcalina nel latte è stata determinata tramite il metodo normato previsto dal Reg CE 1664/2006: ISO 11816-1:2013 (Determination of alkaline phosphatase activity – Part 1: fluorometric method for milk and milk-based drinks). Il metodo prevede l'utilizzo dell'apparecchiatura Fluorophos® Test System (Advanced Instruments, Inc., Norwood, US).

Sono state eseguite inoltre prove di cinetica di inattivazione della ALP; prove di comparazione tra ALP nel latte intero e corrispondente scremato; prove di confronto tra ALP nel latte pastorizzato tramite pastorizzatori industriali e ALP dello stesso latte pastorizzato in laboratorio.

L'analisi statistica è stata eseguita mediante SW MedCalc (version 1412 - © 1993-2014 MedCalc Software bvba).

I valori medi del latte crudo e pastorizzato sono risultati i seguenti:

	ALP Crudo (mU/L)			ALP Pastorizzato (mU/L)		
	Ovini	Caprini	Bufalini	Ovini	Caprini	Bufalini
MEDIA	2.685.757	135.861	1.184.846	272	105	159
Minimo	662.000	7.840	71.780	105	20	45
Massimo	6.953.000	863.800	3.434.000	526	325	388

La divisione in classi di ALP (mU/L) dei campioni di latte pastorizzato, analizzati per le tre specie considerate sono rappresentati nelle seguenti tabelle:

OVINI - Classi di ALP mU/L	<200	200-250	251-300	301-350	351-400	>400
N° Campioni	46	75	71	58	25	15

CAPRINI - Classi di ALP mU/L	<100	100-200	201-300	301-350
N° Campioni	87	56	12	2

BUFALINI – Classi di ALP mU/L	<100	100-200	201-300	301-350	>350
-------------------------------	------	---------	---------	---------	------

N° Campioni	97	214	88	19	3
-------------	----	-----	----	----	---

Ovini: La fosfatasi alcalina nel latte crudo ovino di massa ha registrato una media di $2.686.000 \pm 1.099.000$ mU/L, con un range di 662.000 mU/L – $6.953.000$ mU/L.

ALP varia in maniera significativa durante i mesi di lattazione, in particolare si registra un aumento significativo nei mesi finali della lattazione, quando la produzione inizia a decrescere. Correlazioni significative di ALP si registrano con la caseina ($r = 0,23$; $p=0,001$), il grasso ($r = 0,22$; $p=0,0001$), il lattosio ($r = -0,28$; $p<0,0001$) ed il pH ($r = -0,26$; $p<0,0001$).

Nessuna correlazione si evidenzia con la carica batterica totale.

Non si registrano differenze significative tra le medie di ALP nelle diverse razze ovine, oggetto della sperimentazione (Sarda, Comisana, Lacaune e la Massese).

La fosfatasi alcalina nel latte pastorizzato ovino di massa ha registrato una media di 272 ± 76 mU/L con un range di 105 mU/L – 526 mU/L.

Le correlazioni con gli altri parametri determinati mettono in evidenza correlazioni significative di ALP, anche se modeste, con le cellule somatiche \log_{10} ($r = 0,14$; $p=0,015$) e la carica batterica totale ($r = 0,19$; $p=0,002$).

Caprini: La fosfatasi alcalina nel latte crudo caprino di massa ha mostrato una media di 135.861 ± 124.826 mU/L con un range di 7.840 mU/L e 863.800 mU/L. Anche per la specie caprina la media mensile della fosfatasi alcalina varia durante i mesi di lattazione, in particolare si registra un aumento progressivo da marzo fino a novembre-dicembre.

Le medie di ALP nel latte crudo nei diversi mesi risultano significativamente differenti nei mesi di aprile, maggio, ottobre e novembre rispetto agli altri mesi. Si evidenziano correlazioni significative con le proteine ($r = 0,42$; $p<0,0001$), la caseina ($r = 0,29$; $p=0,0003$), l'urea ($r = 0,23$; $p=0,0001$), il residuo secco magro ($r = 0,21$; $p=0,007$).

Non si registrano differenze significative tra le medie di ALP nelle diverse razze caprine oggetto dei campionamenti (Saanen, Camosciata, Maltese e Monticellana).

La fosfatasi alcalina nel latte pastorizzato caprino di massa ha registrato una media di 105 ± 64 mU/L con un range di 20 mU/L – 325 mU/L. Le correlazioni con gli altri parametri determinati mettono in evidenza una correlazione significativa con le cellule somatiche.

Si registra inoltre una correlazione tra ALP pastorizzato (\log_{10}) e carica batterica totale (\log_{10}) di $r = 0,29$ ($p=0,0003$). Non si registrano differenze tra le medie di ALP pastorizzato divise per razza.

Bufalini: la fosfatasi alcalina nel latte crudo bufalino di massa ha fatto registrare una media di $1.184.846 \pm 544.833$ mU/L con un range che va da 71.780 mU/L a $3.434.000$ mU/L.

Dall'analisi statistica della differenza tra le medie si registra che il mese di giugno risulta essere il mese significativamente differente rispetto agli altri mesi.

ALP nel latte crudo è significativamente correlato positivamente con il grasso ($r = 0,36$; $p<0,0001$), le proteine ($r = 0,26$; $p<0,0001$), con l'urea ($r = 0,25$; $p<0,0001$) e negativamente con il pH ($r = -0,27$; $p<0,0001$).

La fosfatasi alcalina nel latte pastorizzato bufalino di massa ha registrato una media di 159 ± 69 mU/L con un range di 45 mU/L – 388 mU/L. La correlazione tra ALP latte crudo e ALP latte pastorizzato non è risultata significativa. Correlazioni significative si registrano con la carica batterica totale ($r = 0,30$; $p<0,0001$) e le cellule somatiche ($r = 0,15$; $p=0,0019$).

La cinetica di inattivazione di ALP nel latte delle tre specie, mostra che già nei primi 5 minuti di pastorizzazione a 63°C , il 97% della ALP sia già stata inattivata, per arrivare ad un valore superiore al 99% dopo 10 minuti.

Le prove eseguite sulla determinazione della Fosfatasi Alcalina in campioni di latte scremato hanno mostrato come nel grasso sia presente una elevata percentuale di fosfatasi alcalina, così come già riportato in bibliografia. Le prove eseguite hanno evidenziato decrementi di ALP che raggiungono anche valori prossimi al 50%.

Un elemento necessario per la verifica dei risultati ottenuti da questo studio era la comparazione tra i valori di ALP ottenuti in seguito alla pastorizzazione eseguita in laboratorio a 63°C per 30 minuti e

la pastorizzazione che viene eseguita mediante pastorizzatori industriali. Le prove di confronto eseguite hanno mostrato una sostanziale equivalenza nei valori di ALP sia con pastorizzazioni a 69°C per 1 minuto che a 72°C per 15 secondi.

In base ai risultati dello studio un valore di riferimento per ALP nel latte pastorizzato va ricercato nei valori massimi registrati per le tre specie considerate.

Sarà necessario comunque approfondire il confronto tra i risultati della fosfatasi alcalina nel latte pastorizzato in laboratorio (63°C per 30 minuti) e quello pastorizzato tramite pastorizzatori industriali, a diverse temperature e tempi di sosta.

A conclusione dello studio, i risultati ottenuti dopo trattamento di pastorizzazione del latte, indicano che i livelli di fosfatasi alcalina corrispondenti a corretta pastorizzazione per le tre specie considerate potrebbero essere quantificati come segue: Latte ovino ≤ 530 mU/L; Latte caprino ≤ 330 mU/L; Latte bufalino ≤ 380 mU/L