

SHELF LIFE DEL LATTE D'ASINA: BATTERIOLOGIA E COMPONENTE VOLATILE

DONKEY MILK SHELF LIFE: MICROBIOLOGY AND VOLATILE COMPOUNDS

Conte F.¹, Rapisarda T.², Belvedere G.², Carpino S.²

⁽¹⁾ Dipartimento di Sanità Pubblica Veterinaria - Università degli Studi di Messina

⁽²⁾ Consorzio Ricerca Filiera Lattiero Casearia - Ragusa

SUMMARY

Organoleptics properties are important to evaluate the shelf life of food products. Sensory analysis is generally used for this purpose. In this study psychrotrophic, mesophilic bacteria, and pH values were correlated to volatile compounds. The quality of raw donkey milk stored for 3, 7, 10, 14 and 28 days at two different temperatures (3°C and 7°C) was tested. Donkey milk volatiles for the first time in this study were identified. Different volatiles distribution were detected by Smart Nose and GCO during the trials and a correlation with bacteriological and pH data were shown. On the basis of the results the acceptability of 10 days storing at +3°C, and of 3-4 days at +7°C, for milk samples, was pointed out.

Key words

Donkey milk, shelf life, microbiology, volatiles

INTRODUZIONE

La shelf life di un prodotto alimentare è indicativa del “*periodo di tempo necessario perché il prodotto risulti non idoneo al consumo umano*”. La non idoneità coincide con alcuni parametri fisici, chimici, microbiologici, nutrizionali o sensoriali che rendono l'alimento non appropriato per il consumo umano. È ormai consolidato il principio secondo cui il consumatore sembra scegliere un prodotto anche sulla base delle sue caratteristiche sensoriali: aspetto, odore, aroma, gusto, ecc. Pertanto, le valutazioni sensoriali degli alimenti stanno acquisendo un ruolo sempre più rilevante; anche sulla base di ciò, l'industria alimentare riconosce il valore di tali test e la loro conseguente applicazione pratica, ai fini della definizione della shelf life (1).

Con riferimento al latte crudo, in genere, la conservazione nel tempo dipende dalla qualità della

materia prima, dalle condizioni di trasporto e stoccaggio del prodotto; essa, com'è noto, si prolunga con la refrigerazione o, prevalentemente, mediante i trattamenti termici.

Gli studi sull'argomento sono numerosi e riguardano il latte delle specie animali più comunemente commercializzato, mentre le osservazioni sul latte d'asina sono piuttosto esigue. Per tale ragione, qualche anno fa si è ritenuto opportuno focalizzare l'attenzione sulla qualità del prodotto; in detta occasione sono stati indicati i risultati di alcune valutazioni preliminari sulla stabilità del latte d'asina crudo e pastorizzato (2).

Quanto premesso ci ha indotto ad approfondire l'argomento, considerando alcuni caratteri sensoriali del latte d'asina, alimento prevalentemente destinato a soggetti in età infantile per fini dietoterapici. Infatti, unitamente ad un'ineccepibile qualità igienico-sanitaria e nutrizionale, sarebbe opportuno te-

nere in debito conto il concetto di accettabilità sensoriale anche per il “giovane consumatore” di tale prodotto. Il presente studio, pertanto, si è posto l’obiettivo di valutare gli attributi di durabilità del latte d’asina crudo mediante l’indagine batteriologica, associata all’esame della componente volatile, al pari di quanto già attuato per il latte vaccino, le cui valutazioni sensoriali e batteriologiche sono state correlate alla definizione della shelf life (3).

MATERIALI E METODI

Lo studio è stato condotto su latte di massa prelevato da un allevamento di asine di razza Ragusana in provincia di Palermo (PA), regolarmente sottoposto ai controlli sanitari degli animali ed alle verifiche igienico-sanitarie del latte. Le asine erano alimentate con una miscela commerciale a base di cereali (integrata con fieno) e regolarmente condotte al pascolo. Ciascun campione è stato suddiviso in 2 sub campioni per l’effettuazione dei test di shelf life a 2 differenti temperature (+3 e +7°C). L’analisi dei campioni è stata condotta all’arrivo in laboratorio (giorno 0= g0) e, successivamente, a 3, 7, 10, 14, 21 e 28 giorni dal prelievo. I sub – campioni sono stati mantenuti a + 3°C (A) ed a +7°C (B). Essi sono stati contraddistinti, per la prima temperatura di refrigerazione, con le sigle 3A, 7A, 10A, 14A, 21A e 28A; lo stesso criterio è stato applicato per il latte refrigerato a +7°C. Le valutazioni analitiche hanno riguardato: determinazione della flora mesofila (FMT) e psicrotrofa aerobia totale (FPT), secondo metodi analitici APHA (4); del pH, con metodo potenziometrico e della frazione volatile.

Per quest’ultima, si è ricorsi ad uno Smart Nose system (SN) (LDZ, CH-2074 Marin-Epagnier) che analizza i composti organici volatili (VOCs) di campioni liquidi e solidi. A tale scopo sono stati utilizzati 4 ml di latte, con triplice analisi. Al pretratta-

mento dei campioni seguiva l’estrazione dei VOCs dall’apposito contenitore di vetro, mediante una siringa a tenuta di gas e, quindi, l’iniezione nello SN a quadrupolo, in assenza di separazione gascromatografica. I set di dati sono stati elaborati con il software in dotazione allo SN, con il quale era effettuata la Principal Component Analysis (PCA), in base agli ioni più discriminanti ottenuti (5). Successivamente, l’analisi statistica dei dati ha consentito di verificare le similitudini/differenze tra i campioni di latte d’asina refrigerati alle due temperature. Quindi, sono stati selezionati i campioni che hanno mostrato le differenze più significative alla PCA: 14A, 14B, 28A e 28B. Inoltre, sono state determinate le sostanze volatili del campione di latte g0, al fine di caratterizzarne il profilo aromatico di base. L’estrazione delle componenti volatili del latte è stata eseguita mediante estrattore Purge & Trap (Tekmar 8900); i VOCs con odore attivo sono stati analizzati ed identificati con Gas Cromatografo Olfattometrico (HP 6890 Series) (GCO) associato allo Spettrometro di Massa (HP 5973 Mass Selective Detector) (GC/MSD/O). I segnali cromatografici sono stati identificati comparando gli spettri di massa delle molecole con quelli presenti nella libreria Wiley 175 (Wiley & Sons, Inc., Germany) e con gli indici di ritenzione (LRI) di standard puri (Sigma-Aldrich) calcolati sulla base di una serie di normal alcani (C5-C20) esaminati nelle medesime condizioni analitiche. Il riconoscimento dei VOCs è stato realizzato secondo il metodo del “singolo analista” (6). Il tempo di risposta, per ciascun odore percepito dall’analista, è stato registrato dal software Charmware (v.1.12, Datu Inc., Geneva, NY) e convertito in indice di ritenzione (RI) (7); il risultato finale era costituito dal cosiddetto “aromagramma”. L’identificazione delle molecole è stata, inoltre, supportata dal database “Flavornet Internet” (8), contenente valori di RI che descrivono circa 550 VOCs (identificati con gascromatografia olfattometrica).

Tab. 1 – Valori riferibili a FMT e FPT (ufc/ml) ed al pH dei campioni di latte a due temperature

Giorni di refrigeraz	A (+3°C)			B (+7°C)		
	FMT	FPT	pH	FMT	FPT	pH
3	1,7 x10 ²	<10	6,9	2x10 ²	<10	7,0
7	1,6x10 ⁵	2x10 ³	6,5 -6,6	1,24x10 ⁶	1,27x10 ⁶	6,5
10	2x10 ⁵	2,4x10 ⁵	6,6-6,7	1,9x10 ⁵	1,5x10 ⁵	6,5-6,6
14	1,5x10 ⁴	1,4 x10 ⁴	6,4-6,5	3,3x10 ⁵	2x10 ⁵	6,0
21	>3x10 ⁷	>3x10 ⁷	6,4 – 6,5	>3x10 ⁷	>3x10 ⁷	6,1 – 6,2
28	1,3x10 ⁸	>3x10 ¹⁰	6,0-6,1	>3x10 ¹⁰	>3x10 ¹⁰	4,6

Tabella 2 - Profilo aromatico latte d'asina

COMPOSTO	Classe chimica	Descrittore	LRI	Ident	Giorni e temperature di refrigeraz				
					0	14A	14B	28A	28B
NI	-	bruciato	1118	-				*	
1-propanol	alcol	aglio	771	MS					*
2,3-butanediol	alcol	rancido	892	MS,PI		*			
butanal,3-methyl	aldeide	aglio	799	MS					*
hexanal	aldeide	erbaceo	876	MS,PI		*			
nonanal	aldeide	latte caldo	1122	MS,PI		*			
(Z)-3,7-dimethyl,3,6-octadienal	aldeide	erbaceo	1168	PI		*			*
(E)-2-nonenal	aldeide	cetriolo	1174	PI		*			*
(Z)-2-nonenal	aldeide	fieno	1182	PI		*			*
3-idroxy,2-butanone	chetone	burro	779	PI	*	*	*	*	*
1-octen-3-one	chetone	funghi	1008	PI	*	*	*	*	*
3,5-octadienone	chetone	funghi	1099	PI				*	*
methyl butanoate	estere	fruttato	852	MS,PI			*		
ethyl butanoate	estere	mela	876	MS,PI			*		
ethyl hexanoate	estere	arancia	1026	MS,PI			*		
ethyl octanoate	estere	vino	1214	PI	*				
penthyl pyridine	piridina	formaggio	1190	PI				*	
thiophene	sulfureo	aglio	772	PI	*	*		*	
dimethyl disulfide	sulfureo	aglio	801	PI	*		*	*	
methional	sulfureo	patata	956	PI	*		*	*	*
methylidihydrothiofenone	sulfureo	aglio	1002	PI	*				
limonene	terpene	arancia	1031	PI		*			
Totale					7	10	7	8	9

Legenda: LRI, indici di ritenzione lineare ottenuti mediante colonna HP-5.

Identificazione: **MS**, comparazione spettri con Wiley Library; **PI**, comparazione con **LRI** pubblicati; **NI**: Non Identificato;

tanto, se ne è riportata la prima caratterizzazione. Detto profilo (osservato a g0) è paragonabile a quello documentato per il latte bovino crudo; anche in tal caso, sono stati evidenziati solo 7 composti volatili (aldeidi, chetoni e composti sulfurei). Il latte d'asina, rispetto al latte vaccino, non presenta le aldeidi mentre contiene dimetil sulfide, composto comune al latte bovino (9). Ciò sarebbe da correlare al diverso assetto anatomico-funzionale delle due specie ed al tipo di alimentazione; da quest'ultima potrebbe dipendere la presenza del metil diidro tiofe-

none. La separazione dei campioni in PCA1, dall'analisi allo SN, ha dimostrato la maggiore stabilità, nel tempo, dei campioni refrigerati a +3°C, rispetto a quelli a +7°C; tale risultato era confermato anche dalle analisi batteriologiche. I campioni 28A e 28B si sono separati nettamente in PCA1; ad essi corrispondevano infatti indici batteriologici oltremodo inaccettabili.

Le aldeidi ed i chetoni, identificati con il GCO, potrebbero derivare dall'idrolisi degli acidi grassi liberi; i chetoni possono originare anche dall'ossida-

zione degli stessi acidi grassi. Da questi ultimi possono prendere origine gli esteri, per esterificazione o a seguito della degradazione enzimatica proteica. Nel latte crudo refrigerato, come in quello pastorizzato, i batteri psicrotrofi (produttori di enzimi lipolitici e proteolitici) sono determinanti per la conservabilità; causano un detrimento qualitativo a seguito dello sviluppo sensoriale sgradevole come, ad esempio, quello di rancido. Anche nel nostro caso, la FPT avrebbe svolto un certo ruolo in tal senso; ciò potrebbe essere coinciso con la formazione di aldeidi e chetoni in 14A e 14B; anche la comparsa dei chetoni nei campioni 28A e 28B sarebbe da correlare all'attività proteolitica e lipolitica della FPT.

La componente solforata, rilevata già nel latte a g0, quindi da ritenere fisiologica, potrebbe originare da composti solforati presenti negli alimenti somministrati agli animali o dalla degradazione aminoacidica di origine batterica. Alcuni composti riscontrati in 14 A, tra cui esanale, nonanale ed 1-octen-3-one, sono considerati indicatori di ossidazione indotta dal rame in latte trattato termicamente ed esposto alla luce, presso i punti vendita; la medesima considerazione sarebbe valida per dimetil disulfide, riscontrato in g0, 14 A ed in 28 A; quest'ultimo composto, unitamente all'esanale, può essere considerato un buon indicatore del danno causato dall'esposizione alla luce (10). Per ragioni ovvie, dette osservazioni non hanno trovato riscontro per il latte da noi esaminato (non trattato termicamente).

Gli esteri etil butanoato e l'etilesanoato, presenti in 14B, sono stati rilevati anche in latte bovino. Essi sono stati descritti come indicatori di alterazione e sarebbero derivati dall'attività lipolitica di *Pseudomonas* spp., presente nel latte con cariche di 10^5 ufc/ml (9). Gli indici della FPT del latte d'asina, pressoché sovrapponibili a tale valore al 14° giorno, consentono di concordare con quanto riportato per il latte bovino.

Da quanto appena esposto e sulla base delle risultanze riferibili a FMT, FPT, pH e PCA, è possibile considerare l'accettabilità del latte d'asina crudo fino a 10 giorni circa, a +3°C; detto termine si riduce a 3-4 gg circa per il latte tenuto a +7°C.

Le osservazioni emerse dal presente studio sono da ritenere oltremodo interessanti; seguiranno diversi approfondimenti, mirati a perfezionare le conoscenze sull'accettabilità del latte d'asina e sulla sua shelf life, grazie anche alla rilevanza delle specifiche indagini sensoriali cui si è fatto ricorso nel presente studio.

BIBLIOGRAFIA

- 1) Freitas M.A., Josenete, Costa C. (2006) Shelf life determination using sensory evaluation scores: A general Weibull modeling approach. *Computers & Industrial Engineering*, 51, 652–670
- 2) Conte F. (2005). Stabilità del latte d'asina crudo e pastorizzato. *Atti Conv. Naz. A.I.V.I.*, 15, 221-225
- 3) Labreche S., Bazzo S., Cade S., Chanie E. (2005). Shelf life determination by electronic nose: application to milk. *Sensors and Actuators B*, 106, 199–206
- 4) American Public Health Association. "Standard methods for the examination of dairy products". R.T. Marshall PhD, Editor, 16th Edition, 1992
- 5) Esbensen Kim H. 2006. *Multivariate Data Analysis in Practice: An introduction to multivariate data analysis and experimental design*. 5^a edizione, Camo
- 6) Marin, A. B., T.E. Acree, and J. Barnard. 1988. Variation in odor detection thresholds determined by Charm analysis. *Chemical Senses*, 13, 435–444.
- 7) Acree, T. E., and J. Barnard. 1994. Gas chromatography-olfactometry using Charm analysis. In H. Maarse (Ed.), *Trends in flavour research. Proceedings of the 7th Weurman flavour research symposium, Noordwijkerhout, Netherlands, Vol. 35*, pp. 211–220. Amsterdam, Netherlands: Elsevier
- 8) Arn, H., and T. E. Acree. 1997. Flavornet. Worldwide Web resource: <http://www.nysaes.cornell.edu/flavornet/index.html>
- 9) Hettinga K.A., van Valenberg H.J.F., van Hooijdonk A.C.M. (2008). Quality control of raw cows' milk by headspace analysis. *International Dairy Journal*, 18, 506–513
- 10) Ampuero S., Bosset J.O. (2003). The electronic nose applied to dairy products: a review. *Sensors and Actuators B* 94, 1–12