

**PASTA**

# **La FUIROSINA come MARKER di QUALITÀ della pasta di semola di grano duro**

***Furosine as a pasta quality marker***

Parole chiave: furosina, reazione di Maillard, pasta, marker di qualità

*Keywords: furosine, Maillard reaction, pasta, quality marker*

**VANESSA GIANNETTI\* - MAURIZIO BOCCACCI MARIANI - PAOLA MANNINO**

Dipartimento di Management - Sapienza Università di Roma - Via del Castro Laurenziano 9 -  
00161 Roma - Italia

\*[vanessa.giannetti@uniroma1.it](mailto:vanessa.giannetti@uniroma1.it)

## SOMMARIO

La furosina è un prodotto della reazione di Maillard che si forma negli alimenti sottoposti a stress termico. Per legge, la furosina va monitorata solo nel latte e nei formaggi mentre per gli altri alimenti non è previsto un valore limite. In generale però bassi contenuti di furosina indicano un'elevata qualità nutrizionale e l'adozione di blandi trattamenti termici. In questo studio è stato sviluppato un metodo HPLC per la determinazione della furosina in campioni di pasta di semola di grano duro. Lo screening, effettuato su un elevato numero di campioni comprendenti sia prodotti industriali che artigianali, ha evidenziato come il contenuto di furosina sia dipendente dal tipo di processo di essiccamento adottato (lento a basse temperature o rapido ad alte temperature). La furosina potrebbe dunque essere utilizzata come marker di qualità e di processo per controllare il danno termico subito dalla pasta durante la lavorazione oltre che per individuare eventuali frodi commerciali.

## ABSTRACT

Furosine is a Maillard reaction product which is formed in foodstuffs submitted to thermal stress. According to the law, furosine content must be monitored in milk and dairy products, while there is no limit value for other food categories. However, low furosine concentrations are generally related to high nutritional food quality and to the adoption of mild heat treatments.

In this study a HPLC method for the determination of furosine in durum wheat semolina pasta samples was developed. The screening, performed on a wide selection of samples including both industrial and artisanal products, highlighted that furosine content depends on the drying process applied (slow at low temperatures or fast at high temperatures). Thus, furosine may be used as quality and process marker to control pasta thermal damage during manufacturing, as well as to discover potential label fraud.

## INTRODUZIONE

## Il settore pastario

La pasta è da sempre considerata sinonimo dei valori portanti dell'alimentazione italiana e ritenuta da tutti gli esperti della nutrizione un alimento particolarmente sano che contribuisce alla qualità della vita. Le linee guida per una sana e corretta alimentazione ne raccomandano un regolare consumo in virtù delle sue caratteristiche nutrizionali (elevata densità energetica 350 kcal/100 g, basso contenuto in grassi). Essa rappresenta un pilastro della Dieta Mediterranea riconosciuta recentemente come "Patrimonio culturale immateriale dell'umanità" dall'Unesco (United Nations Educational, Scientific and Cultural Organization) e indicata dal WHO (World Health Organization of the United Nations) e della FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations) quale "modello alimentare salutare, sostenibile e di qualità".

La filiera di produzione della pasta costituisce un asse portante dell'economia agroalimentare nazionale con un valore della produzione superiore ai 6 miliardi di euro e circa 6.000 imprese produttrici (oltre l'8% delle aziende del settore alimentare italiano) con 30.000 addetti (Nomisma, 2010). Nel settore pastario convivono sia imprese di grandi dimensioni alle quali è ascrivibile la gran parte del fatturato realizzato, sia micro realtà di carattere artigianale diffuse su tutto il territorio nazionale e spesso focalizzate su produzioni tipiche regionali. Questa struttura produttiva costituisce l'apice di una filiera che coinvolge direttamente anche l'industria molitoria di prima e seconda trasformazione delle semole ed un'ampia porzione dell'agricoltura nazionale, dedicata alla produzione del grano duro.

La rilevanza del comparto delle paste alimentari assume proporzioni ancora maggiori se si focalizza l'attenzione sull'export (circa 1,8 miliardi di euro). La pasta rappresenta infatti la quarta voce più importante dopo vino, conserve vegetali e carni preparate, contribuendo a diffondere l'immagine e la tradizione del Made in Italy nel mondo e di conseguenza svolgendo un ruolo che va ben oltre i dati strettamente economici ad esso direttamente riferiti. L'industria italiana della pastificazione è leader nel mondo per produzione, potenzialità produttiva installata, consumo nazionale e pro-capite ed esportazione. Il nostro Paese rappresenta il 26% circa (3,2 milioni di tonnellate) della produzione mondiale di pasta e il 75% della produzione Ue, con un'esportazione del 51% della produzione (Fonte: stime Aidedpi su dati Istat). In Italia il consumo pro-capite di pasta si attesta intorno ai 28 kg, un valore almeno 2-3 volte superiore a quello di qualunque altro Paese, mentre ben il 42% degli scambi di pasta a livello mondiale riguarda prodotti italiani. Tuttavia, la leadership italiana non può essere data per scontata dal momento che nuovi competitor internazionali si affacciano ormai sul mercato globale. La progressiva riduzione del numero dei pastifici nel nostro Paese è indice delle difficoltà attraversate dal settore, trovatosi in larga parte ad operare con margini insufficienti e a garantire la sostenibilità della produzione. La produzione di pasta rappresenta per l'Italia un patrimonio di grandissimo valore economico e culturale e come tale va difeso e sostenuto nell'interesse delle imprese produttrici, dei lavoratori e dei consumatori. In un'ottica di protezionismo viene portata avanti una "rigorosa politica di qualità", sostenuta anche in Corte di Giustizia della Comunità Europea e consolidata da parte degli industriali pastai italiani e della

loro Associazione nazionale di categoria, l'Aidedpi.

L'elevato standard qualitativo di alcune paste italiane è il frutto della combinazione di diversi fattori che concorrono a conferire al prodotto caratteristiche ottimali. Tra i diversi tipi di pasta, quella secca rappresenta la quota di mercato maggiore con un ampio panorama di prodotti distinti per abitudini e frequenza di consumo, caratteristiche organolettiche e posizionamento di prezzo. Oltre l'impiego esclusivo di semole ottenute dalla miscelazione di grani duri delle migliori qualità, l'Italia può certamente contare su una lunga tradizione produttiva unita ad anni di ricerca tecnologica e di sperimentazione. La Legge n. 580/67, e successive modifiche, prescrive come principio fondamentale l'obbligo di produrre pasta esclusivamente con grano duro, ma non prevede vincoli per il processo produttivo. Diversamente, la pasta prodotta in altri Paesi, la cui commercializzazione in Italia non è vietata, può essere prodotta tutta o in parte con sfarinati di grano tenero con il solo obbligo di riportare una denominazione di vendita precisa (es. pasta di farina di grano tenero; pasta di semola di grano duro e di farina di grano tenero; ecc.). Un aspetto importante, ribadito dalla Circolare del Ministero delle Attività Produttive n. 168 del 10 novembre 2003, è che la qualità della pasta di semola di grano duro non dipende dalla qualifica "artigianale" o "industriale" del produttore e dal metodo produttivo, ma dalle oggettive caratteristiche organolettiche, chimico-fisiche e nutrizionali. Pertanto, questa qualifica non può in alcun modo essere utilizzata per presentare i prodotti come superiori nella qualità. L'azienda artigianale non può cioè trasformare la sua qualifica giuridica in un elemento di qualità dei prodotti finiti.

## La furosina

Oggi, sul mercato è disponibile una gran varietà di prodotti pastari notevolmente diversi gli uni dagli altri in virtù di differenti caratteristiche delle materie prime e del processo produttivo. Tra le principali fasi della filiera produttiva (realizzazione dell'impasto, trafilatura, essiccazione), l'essiccazione rappresenta il passaggio cruciale per la qualità finale della pasta di semola di grano duro (Sensidoni *et al.*, 2003) e tempo e temperatura sono i parametri considerati più critici.

Un processo di essiccazione lento prevede tempi di trattamento che vanno dalle 24 alle 60 ore in base ai formati rispetto a tempi di 2-3 ore nei procedimenti veloci. In linea generale una bassa temperatura, inferiore a 60°C, limita il danno termico non alterando la struttura del glutine e mantenendo il più possibile intatte le caratteristiche organolettiche e nutrizionali del prodotto. Il metodo associato a prodotti top quality è l'essiccazione lenta a basse temperature (Low Temperatures-Long Times, LT-Lt).

Tuttavia, nella produzione su scala industriale si fa ampiamente ricorso a processi rapidi ad alte (60°-80°C) o altissime (>100°C) temperature, definiti rispettivamente High Temperature-Short time (HT-St) e Very High Temperature-Short time (VHT-St), che comportano degli indiscutibili vantaggi in termini di aumento della produttività di impianto, abbassamento dei costi di esercizio, riduzione della contaminazione microbica e miglioramento della consistenza della pasta durante la cottura (Dexter *et al.*, 1981; Manser, 1990; Pavan, 1979; Pollini, 1996). D'altra parte, però, le alte temperature favoriscono la formazione di prodotti della reazione di Maillard causando cambiamenti nella composizione del prodotto finito (Pagani *et al.*, 1986).

La reazione di Maillard (MR) si compone di un complesso insieme di reazioni che hanno luogo durante i trattamenti termici degli alimenti e coinvolgono i gruppi carbonilici di zuccheri semplici e i gruppi amminici liberi di amminoacidi e proteine (O'Brien e Morrisey, 1989). In particolare, durante la fase di essiccazione della pasta, la MR produce via via cambiamenti nelle proprietà funzionali, nel valore nutrizionale del prodotto (blocco o distruzione della lisina), nell'aroma ed infine nel colore (Reineccius, 1990). Nella produzione della pasta secca la MR è sostanzialmente limitata ad uno step iniziale e ad uno intermedio, in quanto sono necessarie temperature molto più elevate per raggiungere lo step finale e consentire la formazione delle melanoidine (pigmenti bruni). Nello step iniziale, a seguito del riscaldamento, la lisina tende a reagire con gli zuccheri liberi (glucosio, maltosio) producendo composti di Amadori stabili (fruttosil-lisina, maltulosil-lisina). Per valutare la quantità di lisina non più biodisponibile, alcuni Autori (Chiang, 1983; Erbersdobler *et al.*, 1987; Resmini *et al.*, 1990; Guerra-Hernandez *et al.*, 1999; Ramirez-Jimenez *et al.*, 2000; Delgado-Andrade *et al.*, 2005) utilizzano come indicatore la furosina ( $\epsilon$ -N-(furoilmetil)-L-lisina), un amminoacido che si forma per idrolisi acida dei composti di Amadori derivati dalla lisina. In generale, infatti, la furosina è considerata un affidabile marker del danno termico e nutrizionale subito dagli alimenti nel corso della lavorazione. Pertanto, nel caso della pasta secca il contenuto di furosina potrebbe essere utilizzato per esaltare il valore aggiunto delle paste prodotte con metodi LT-Lt rispetto a quelle prodotte con procedimenti HT-St o VHT-St, benchè il livello massimo di furosina nella pasta non sia sottoposto ad alcun vincolo normativo. Inoltre, il monitoraggio della con-

centrazione di furosina, mediante analisi di routine, potrebbe essere utilizzato come indicatore di processo consentendo il controllo delle condizioni di essiccamento (Migliori *et al.*, 2005).

In Italia, al momento, l'unico metodo analitico di riferimento riguarda la determinazione della furosina nei formaggi, nel latte crudo e nel latte sottoposto a trattamenti termici riportato nel Decreto Ministeriale 16 maggio 1986. Il metodo prevede la determinazione mediante HPLC in coppia ionica a fase inversa utilizzando una costosa colonna cromatografica e specifica solo per questo tipo di analisi (C8 "furosina-dedicata"). Benché in letteratura siano reperibili numerosi altri metodi per la determinazione della furosina, che spaziano dalla gascromatografia (Buser e Erbersdobler, 1985; Ruttkat e Erbersdobler, 1994), alla cromatografia a scambio ionico (Molnar-Perl *et al.*, 1986; Hartkopf e Erbersdobler, 1993), al HPLC in coppia ionica a fase inversa (Anese *et al.*, 1999; Chiang, 1983; Resmini *et al.*, 1990; Delgado *et al.*, 1992), nessuno risulta di semplice applicazione per la lunghezza e la laboriosità della procedura né è idoneo per un'analisi quantitativa (bassa risoluzione tra furosina e picchi di impurezze). L'obiettivo della nostra ricerca è stato, pertanto, quello di sviluppare un metodo cromatografico semplice, veloce e robusto per quantificare la furosina in campioni di pasta alimentare. A tal fine è stata valutata l'applicabilità di una colonna cromatografica multi-modale. La fase stazionaria della colonna è basata sulla tecnologia innovativa della silice ibrida nanopolimerica (NSH) in grado di fornire diversi meccanismi di ritenzione tra cui fase inversa, scambio cationico e scambio anionico. Tutti i meccanismi possono lavorare simultaneamente o essere controllati in modo indipendente, garantendo la massima flessibilità nel-

lo sviluppo del metodo e nell'ottimizzazione della selettività. Inoltre, utilizzando elevate percentuali di solvente organico è favorita la ritenzione mediante interazioni idrofiliche (hydrophilic interaction liquid chromatography, HILIC), caratteristica che consente una migliore separazione di analiti carichi e idrofili non determinabili mediante la convenzionale cromatografia a coppia ionica in fase inversa (Liu e Pohl, 2010).

## MATERIALI E METODI

### Campioni di pasta

I campioni di pasta di semola di grano duro sono stati selezionati dalla disponibilità della Grande Distribuzione (supermercati e discount) e da negozi di prodotti locali. I campioni di pasta scelti appartenevano alla categoria "largo consumo" che si posiziona, come marchio e prezzo, tra i formati più comunemente utilizzati nel quotidiano delle tavole italiane (prezzo medio  $\approx 1,5$  €/kg) e prodotti con marchio discount (prezzo medio  $< 1$  €/kg). Si tratta, in entrambi i casi, di prodotti con processo di essiccamento breve ad alte temperature che denomineremo campioni industriali (il dettaglio del processo non è riportato in etichetta). Altri campioni di pasta prodotti attraverso metodi tradizionali, come riportato in etichetta con la dicitura "essiccata lentamente a bassa temperatura", in questo lavoro sono stati denominati come campioni artigianali (prezzo medio  $\approx 5$  €/kg). Per ogni categoria di pasta sono stati analizzati differenti formati - pasta corta (penne, rigatoni, ecc.), pasta lunga (spaghetti, linguine, ecc.) e pastina da brodo (conchigliette, ditalini, ecc.) - e per ogni tipologia di campione sono stati analizzati differenti lotti.

Nel complesso, sono stati studiati più di 100 campioni di pasta di 32 marche differenti. I campioni sono stati conservati nelle loro confezioni originali a temperatura ambiente fino al momento delle analisi.

### Trattamento del campione

Il trattamento dei campioni è stato effettuato seguendo il metodo per la determinazione degli amminoacidi come riportato in letteratura (Resmini *et al.*, 1990). I campioni di pasta sono stati macinati con un molino per uso domestico fino ad ottenere una farina. Un'aliquota pari a 350 mg (corrispondente a circa 50 mg di proteine) è stata idrolizzata con 8 mL di acido cloridrico (HCl) 8 N. I campioni così trattati sono stati tappati ermeticamente e, dopo aver insufflato azoto per 2 minuti, posti in stufa per 23 ore a 110°C. I campioni idrolizzati sono stati fatti passare su filtro a membrana da 0,22 µm ed il filtrato purificato su cartuccia SPE C18 utilizzando 3 mL di HCl 3N (la cartuccia è stata precedentemente condizionata con 5 mL di metanolo e 10 mL di acqua deionizzata). La determinazione del contenuto di azoto totale è stata eseguita sfruttando il metodo Kjeldahl (AOAC 920.87, 1990) ed il contenuto in proteine è stato calcolato utilizzando 5,70 come fattore di conversione.

## RISULTATI E DISCUSSIONI

### Preparazione e conservazione delle soluzioni standard

Lo standard di furosina acquistato in forma liofilizzata è stato solubilizzato con HCl 3 N e conservato a -20°C secondo quanto riportato nelle relative specifiche. La soluzione

di furosina concentrata è stabile per lungo tempo se mantenuta a basse temperature e a riparo dalla luce; è stato pertanto necessario suddividerla in piccole aliquote da conservare al buio o in vial ambrate. Ciascuna aliquota aveva un volume pari alla quantità necessaria per costruire di volta in volta la retta di calibrazione, in modo da evitare cicli di scongelamento-congelamento. Le soluzioni standard diluite si mantengono integre fino a 3 giorni se tenute a -20°C oppure per 2 giorni a 4°C, dopodichè la furosina inizia a degradarsi come evidenziato dallo spettro di assorbimento registrato mediante rivelatore a fotodiodi (DAD) (fig. 1). Seguendo tali accortezze, le soluzioni di calibrazione sono state preparate subito prima di ogni analisi per diluizione della soluzione concentrata.

### Ottimizzazione della separazione cromatografica

In fase preliminare le soluzioni standard di furosina sono state analizzate mediante una convenzionale metodica HPLC a fase inversa in coppia ionica testando una colonna C18 ed una C8. In entrambi i casi il cromatogramma ha mostrato una sovrapposizione tra il picco della furosina e quello di un'impurezza non identificata (Giannetti *et al.*, 2013). Lo standard commerciale di furosina, infatti, ha una purezza del 72,4% e impone perciò la necessità di ricorrere a meccanismi di ritenzione diversi per separare il picco dell'analita da quello di altri interferenti. Di recente l'utilizzo di colonne cromatografiche multi-modali ha permesso di separare miscele complesse e picchi spesso non risolvibili mediante una tradizionale HPLC a fase inversa (Gao *et al.*, 2007; Hsieh *et al.*, 2007; McCallum *et al.*, 2007; Apfelthaler *et al.*, 2008; Li *et al.*, 2008; Abbood *et al.*, 2009;

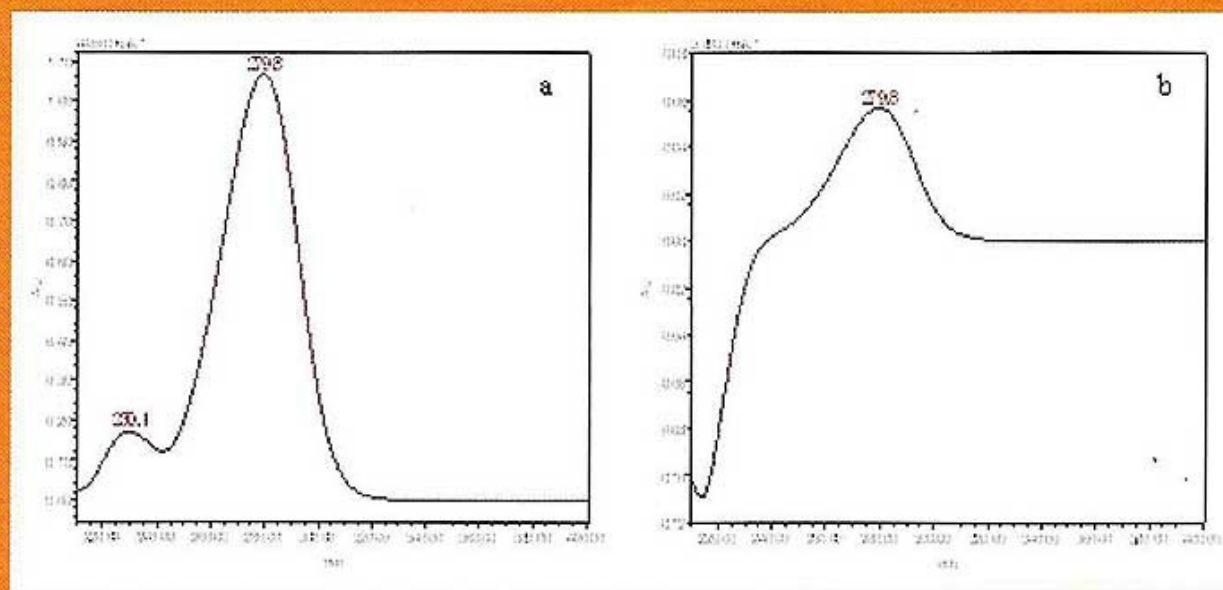


Fig. 1 - Confronto tra gli spettri DAD di una soluzione standard di furosina appena preparata (a) e la stessa soluzione analizzata quattro giorni dopo (b).

Zhang *et al.*, 2010). Infatti, le fasi stazionarie multi-modali forniscono simultaneamente più meccanismi di ritenzione consentendo la separazione degli analiti in base alle differenze sia di polarità che di carica. Ciascuno di questi meccanismi di ritenzione è stato controllato in modo indipendente valutando l'effetto del pH, la concentrazione e la forza ionica del tampone e la percentuale di modificante organico nella fase mobile. Il sistema cromatografico utilizzato (HPLC/DAD) era completamente costituito da tubi in PEEK dimostrandosi completamente inerte all'acido e consentendo così di effettuare un elevato numero di analisi. La colonna analitica era una Acclaim Trinity P1 della ThermoFisher Scientific (100 mm × 3 mm i.d., 3 μm pore size) mantenuta a 30°C durante l'analisi cromatografica in gradiente. La fase mobile consisteva in tre differenti fasi eluenti: acetonitrile, soluzione tampone

di acetato di sodio 0,4%<sub>(p/v)</sub> pH 4,5 e cloruro di potassio (KCl) 0,27%<sub>(p/v)</sub> nella soluzione di tampone a 0,4%<sub>(p/v)</sub> pH 4,5. Per i dettagli analitici si rimanda all'articolo pubblicato sul Journal of Food Science (Giannetti *et al.*, 2013). Mediante questo approccio è stato possibile separare il picco della furosina in meno di 8 minuti.

### Calibrazione e precisione del metodo

La retta di calibrazione è stata costruita analizzando quattro soluzioni standard nell'intervallo di concentrazioni compreso tra 1,45 e 8,69 mg/L. Tale intervallo è necessario per quantificare il contenuto di furosina nei campioni di pasta analizzati. La curva di calibrazione è risultata lineare nell'intervallo investigato con un coefficiente di correlazione pari a 0,9993 (n=4). In seguito, sono stati analizzati standard di furosina a concentra-

zioni al di sopra e al di sotto di tale intervallo per verificare se il range di linearità potesse essere ampliato per estendere l'applicabilità del metodo ad alimenti sottoposti a trattamenti termici drastici (es. latte in polvere, cereali per la prima colazione, ecc.) nei quali il contenuto atteso di furosina è certamente più elevato che nella pasta secca. L'intervallo è risultato lineare da 0,18 a 72,4 mg/L ( $R_2 = 0,9991$ ). La precisione del metodo, espressa come deviazione standard relativa (RSD%), è stata calcolata analizzando per 4 volte nello stesso giorno una soluzione standard di furosina a 1,45 mg/L ( $RSD\%_{interday} = 0,45$ ) e iniettando la stessa soluzione per 4 volte al giorno per tre giorni consecutivi ( $RSD\%_{intraday} = 1,04$ ). Il limite di rivelabilità (LOD = 0,05 mg/L) ed il limite di quantificabilità (LOQ = 0,18 mg/L) sono stati calcolati dal segnale del bianco e la sua deviazione standard iniettando per 10 volte una soluzione standard molto diluita ( $LOD = Sb + 3sb$ ,  $LOQ = Sb + 10sb$ ,  $n = 10$ ).

### Analisi della furosina nei campioni di pasta

Per ottenere analisi riproducibili, l'intera procedura analitica richiede molta attenzione nell'esecuzione per evitare perdite di analita durante i vari passaggi di pretrattamento del campione. Infatti, la reazione che dà luogo alla formazione della furosina ha una resa del 30-40% solo se l'idrolisi avviene in condizioni controllate e riproducibili (Erbersdobler e Hupe, 1991). La riproducibilità intralotto è stata valutata analizzando campioni di pasta dello stesso formato (penne) appartenenti a 7 grandi marche. Sono stati selezionati tre pacchi per ciascun lotto e per ogni pacco sono state effettuate 3 repliche, ottenendo valori di RSD% compresi tra 0,78

e 1,22. Non sono state riscontrate differenze di riproducibilità significative tra campioni artigianali e campioni industriali. Per valutare anche la riproducibilità interlotto sono stati selezionati 5 campioni di pasta con il marchio dei principali discount, e per ciascun marchio sono stati analizzati tre lotti diversi. Come atteso, i valori di RSD% interlotto, compresi tra 2,23 e 3,46, sono risultati più elevati rispetto a quelli del RSD% intralotto presumibilmente a causa di una maggiore variabilità delle condizioni di processo tra lotti differenti.

Una volta verificata la buona riproducibilità, il metodo è stato applicato ad un gran numero di campioni. La **fig. 2** mostra i risultati ottenuti analizzando campioni di pasta corta con differenti formati. Complessivamente per i vari campioni analizzati la deviazione standard varia da 1,53 a 6,68 mg/100 g di proteine. In accordo con i risultati ottenuti da altri Autori (Anese *et al.*, 1999; Garcia-Baños *et al.*, 2004), i campioni industriali (grandi firme e discount) presentavano concentrazioni di furosina relativamente elevate e comprese tra 226 e 506 mg/100 g di proteine. La variabilità significativa nel contenuto di furosina è probabilmente legata a differenti combinazioni tempo-temperatura durante lo step di essiccamento (processi VHT-St o HT-St). Difatti si può supporre che nei campioni sottoposti a processi VHT-St le concentrazioni di furosina siano nettamente superiori (da 345 a 506 mg/100 g di proteine) rispetto a quelle dei campioni essiccati mediante processi HT-St (da 226 a 304 mg/100 g di proteine). Invece, come atteso, nei campioni artigianali il contenuto di furosina era compreso tra 107 e 186 mg/100 g di proteine, a conferma del fatto che i processi LT-Lt limitano la formazione di questo prodotto della MR. Tuttavia, in 5

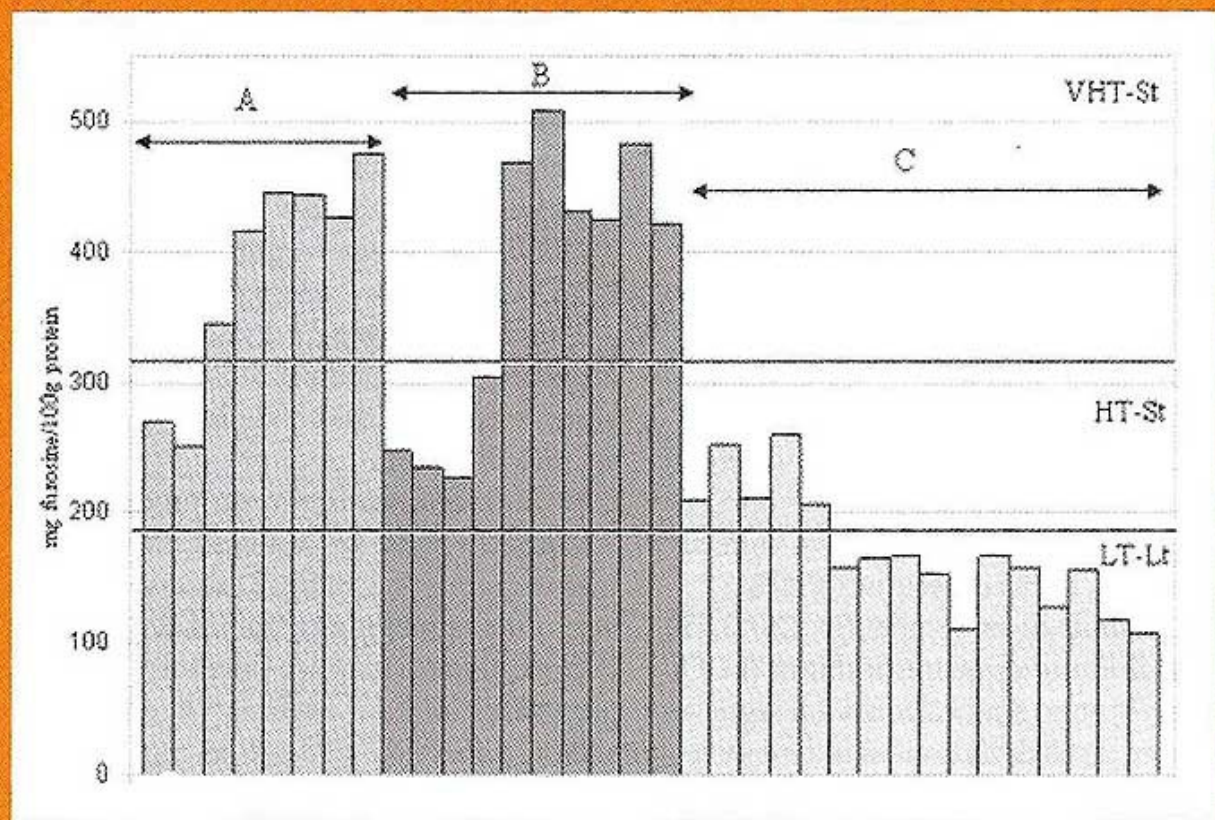


Fig. 2 - Contenuto di furosina (media di due repliche) in differenti campioni di pasta corta. A: campioni con marchio discount; B: campioni delle grandi marche più diffuse; C: campioni artigianali.

campioni artigianali i contenuti di furosina (compresi tra 207 e 260 mg/100 g di proteine) sono risultati paragonabili a quelli trovati nei campioni industriali processati ad alte temperature (HT-St). Tale risultato potrebbe far supporre che alcuni prodotti presenti sul mercato con la dicitura "pasta artigianale" siano in realtà essiccati con temperature  $>60^{\circ}\text{C}$ .

La fig. 3 mostra la sovrapposizione dei cromatogrammi di un campione artigianale (essiccamento di tipo LT-Lt) con due campioni industriali (essiccamento HT-St e VHT-St, rispettivamente) evidenziando chiaramente le differenze nel contenuto di furosina. La

tab. 1 e la fig. 4 mostrano come la concentrazione di furosina nei campioni, a parità delle condizioni di essiccamento, sia influenzata anche dal formato della pasta.

Per campioni di una stessa marca, i dati sperimentali hanno evidenziato che il contenuto di furosina è mediamente più elevato nei formati lunghi (spaghetti, trenette, bucatini) rispetto a quelli corti (penne, maccheroni, fusilli) o alla pastina da brodo (ditalini, tempestine, conchigliette). Si può supporre che il formato e dunque l'area superficiale influenzino la velocità di evaporazione dell'acqua dalla pasta causando una conseguente variazione dell'attività dell'acqua ( $a_w$ )

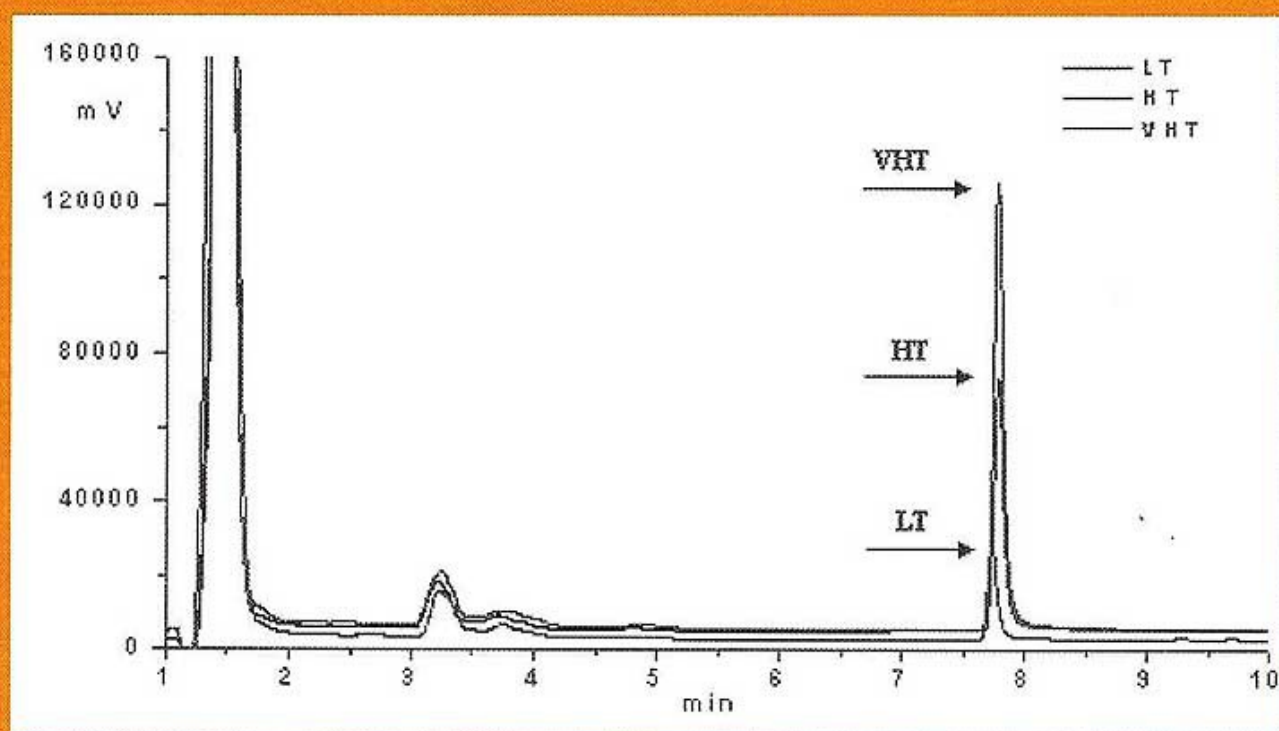


Fig. 3 - Sovrapposizione dei profili cromatografici di tre campioni di pasta prodotti con tre differenti processi di essiccamento.

Tabella 1 - Contenuto di furosina di alcuni campioni di pasta prodotti nelle stesse condizioni di essiccamento e analizzati in tre differenti formati.

			Furosina mg/100 g di proteine					
Pasta industriale marchio discount			Pasta industriale grandi firme			Pasta artigianale		
corta	lunga	da brodo	corta	lunga	da brodo	corta	lunga	da brodo
445,25	553,31	242,81	468,79	514,30	370,17	168,05	228,56	158,80
427,22	527,22	323,57	431,29	481,45	427,75	231,83	324,08	209,15
495,31	515,53	298,34	234,38	299,52	194,51	183,73	196,92	152,59
415,10	438,25	327,26	354,92	395,97	226,09			

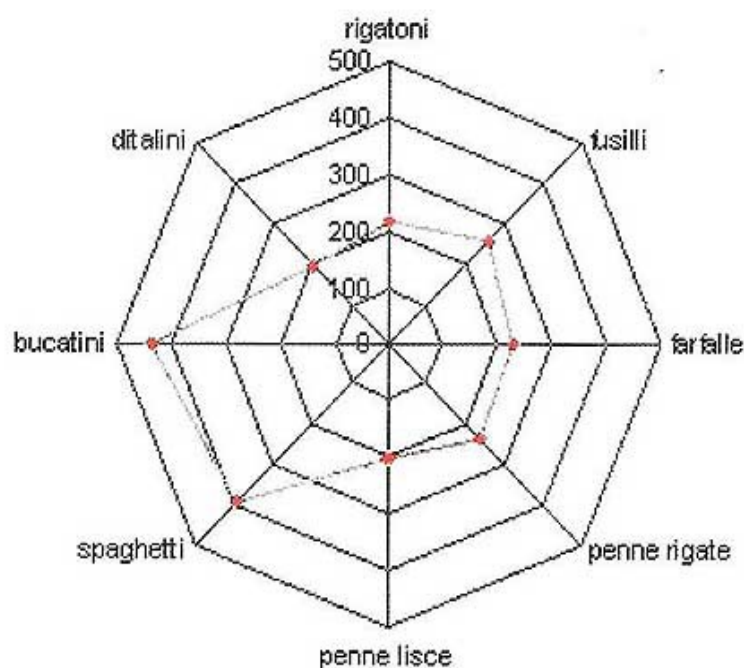


Fig. 4 - Contenuto di furosina, espresso come mg/100 g di proteine, in campioni di pasta industriale della stessa marca con differenti formati.

durante lo step di essiccamento. Tale ipotesi è supportata da alcune evidenze sull'esistenza di una relazione tra la cinetica di formazione della furosina e la variazione della  $a_w$  durante l'essiccamento della pasta (Sensidoni *et al.*, 2003; Migliori *et al.*, 2005). Difatti, durante l'essiccamento finale la pasta perde oltre il 50% di umidità. Inizialmente la semola di grano duro è idratata fino al 30-32% per formare l'impasto e successivamente durante l'essiccamento il contenuto di acqua raggiunge il 15% pari ad una  $a_w$  ~0,8, riconosciuta come valore ottimale per lo sviluppo della MR. Solo al termine del processo la percentuale di acqua residua scende al 12-13% (Labuza, 1980).

## CONCLUSIONI

In questo studio è stato sviluppato un metodo HPLC per determinare il contenuto di furosina in campioni di pasta alimentare. Il metodo proposto ha mostrato performance di precisione, sensibilità e riproducibilità eccellenti. L'utilizzo di una colonna cromatografica narrow-bore ad elevata efficienza consente ridotti consumi di solvente organico (800 mL di acetonitrile per circa 100 analisi) rendendo il metodo economicamente e ambientalmente sostenibile. Inoltre, l'approccio del meccanismo di ritenzione multiplo permette di incrementare la robustezza del metodo consentendo allo stesso tempo di ri-

durere notevolmente i tempi di analisi ( $t_R = 8$  min) rispetto a quelli necessari per la metodica ufficiale ( $t_R = 21-24$  min). Sia il sistema strumentale HPLC sia la colonna cromatografica hanno mostrato un'elevata resistenza all'acido consentendo di effettuare oltre 200 analisi senza che la colonna abbia perso efficienza separativa.

I dati sperimentali confermano che il contenuto di furosina è un buon indice del danno termico subito dalla pasta durante la lavorazione, un marker sensibile alle condizioni adottate nello step di essiccazione nonché un potenziale parametro per smascherare eventuali prodotti ingannevoli. I risultati soddisfacenti ottenuti incoraggiano l'applicazione di questo metodo HPLC ad altre categorie di alimenti trattati termicamente, per il monitoraggio dei livelli di furosina ai fini del controllo qualità.

## Ringraziamenti

Si ringraziano il dott. Franco Abballe e la dott.ssa Simona Fossa di ThermoFisher Scientific per il supporto tecnico offerto nel corso dello studio.

## BIBLIOGRAFIA

- Abbood A., Smadja C., Herrenknecht C., Alahmad Y., Tchaplal A., Taverna M. "Retention mechanism of peptides on a stationary phase embedded with a quaternary ammonium group: a liquid chromatography study". *J. Chromatogr. A* 1216:3244-3251, 2009.
- Anese M., Nicoli M.C., Massini R., Leticci C.R. "Effects of drying processing on the Maillard reaction in pasta". *Food Res. Intl.* 32:193-199, 1999.
- AOAC. Official methods of analysis. 15<sup>th</sup> Ed. Arlington, Va.: Association of Official Analytical Chemists, method nr 920.87, 1990.
- Apfelthaler E., Bicker W., Lämmerhofer M., Sulyok M., Krska R., Lindner W., Schumacher R. "Retention pattern profiling of fungal metabolites on mixed-mode reversed-phase/weak anion exchange stationary phases in comparison to reversed-phase and weak anion exchange separation materials by liquid chromatography-electrospray ionisation-tandem mass spectrometry". *J. Chromatogr. A* 1191:171-181, 2008.
- Buser W., Erbersdobler H.F. "Determination of furosine by gas-liquid chromatography". *J. Chromatogr. A* 363: 346-358, 1985.
- Chiang G.H. "A simple and rapid high-performance liquid chromatographic procedure for determination of furosine, a lysine reducing sugar derivative". *J. Agric. Food Chem.* 31:1373-1384, 1983.
- Decreto Ministeriale 16 maggio 1996. "Approvazione del metodo ufficiale di analisi per la determinazione diretta della furosina nel latte e nel formaggio". G.U. n. 162 del 12/07/1996.
- Delgado T., Corzo N., Santa-Maria G., Jimeno M.L., Olano A. "Determination of furosine in milk samples by ion-pair reversed phase liquid chromatography". *Chromatography* 33: 374-386, 1992.
- Delgado-Andrade C., Rufian-Henares J.A., Morales F.J. "Fast method to determine furosine in breakfast cereals by capillary zone electrophoresis". *Eur. Food Res. Tech.* 221:707-711, 2005.
- Dexter J.E., Matsuo R.R., Morgan B.C. "High temperature drying: effect on spaghetti properties". *J. Food Sci.* 46:1741-1746, 1981.
- Erbersdobler H.F., Dehn B., Nangpal A., Reuter H. "Determination of furosine in heated milk as a measure of heat intensity during processing". *J. Dairy Res.* 54:147-151, 1987.
- Erbersdobler H.F., Hupe A. "Determination of lysine damage and calculation of lysine bio-availability in several processed foods". *Z. Ernährungswiss.* 30:46-49, 1991.
- Gao D., Lin D.O., Yao S.J. "Mechanistic analysis on the effects of salt concentration and pH on protein adsorption onto a mixed-mode adsorbent with cation ligand". *J. Chromatogr. B* 859:16-23, 2007.

(segue a pag. 1094)