

Proprietà salutistiche del latte

Come migliorarle

L'applicazione delle tecnologie di membrana

di Massimo Pizzichini*, Massimo Vitagliano*, Andrea Agnelli*
e Claudio Mucciolo**

* Genelab srl

** Servizio Igiene alimenti di origine animale, Dipartimento di Prevenzione, Asl di Salerno

Le tecnologie di membrana hanno consentito uno sviluppo formidabile dell'industria lattiero-casearia, ampliando l'offerta di nuovi prodotti e specialità alimentari

39

la Tabella 1 si riporta la composizione chimica del latte vaccino¹.

Oltre alle caseine e alle sieroproteine, in questo alimento sono presenti anche sostanze azotate non proteiche, il cui peso molecolare è inferiore a 900 dalton. Nel latte dei ruminanti rappresen-

Tabella 1
Composizione chimica del latte vaccino

COMPOSTI	CONCENTRAZIONE (%)
Acqua	87
Glucidi (lattosio)	4,5-5
Lipidi (trigliceridi)	3,6
Proteine totali	3,2-3,6
Caseine	2,4-3,0
Sieroproteine	0,8-1,0
Sali minerali	0,6
Vitamine, Enzimi	0,2

L'importanza nutrizionale del latte nella dieta umana è dimostrata non solo dallo stretto sodalizio biologico che fa del latte la prima ed unica fonte di nutrienti del neonato, ma anche dagli innumerevoli studi di ricerca volti ad evidenziare il ruolo funzionale dei costituenti del latte e dei suoi derivati, nell'ambito di una corretta alimentazione umana. Proteine, vitamine, glucidi, grassi, sali minerali ed acqua sono presenti nel latte in quantità che variano da una specie di mammiferi all'altra. Nel-

¹ Alais, C. (1995). *Scienza del latte*. Edizioni Tecniche nuove.

tano una debole parte del totale azotato, dal 5 al 7% in media (circa 1,6 g/l). Le componenti principali di questa frazione non proteica (NPN) sono in ordine: urea, creatina, creatinina, ammoniaca, nucleotidi, basi azotate, acido orotico².

Nel latte materno, grassi e lattosio sono più abbondanti che in quello vaccino, ma non è presente una caseina, la alfa-s1, ed una siero-proteina, la β-lattoglobulina, spesso responsabile di intolleranza alimentare nei neonati alimentati con formule a base di latte vaccino. Per superare questi fenomeni avversi, sono stati sviluppati nuovi prodotti speciali per l'infanzia, a base di latte e non.

Per poter conservare il latte per almeno 5-10 giorni è necessario pastorizzarlo, cioè riscalarlo a 72-75 °C per 15 secondi, in modo da eliminare i microrganismi patogeni e ridurne la carica batterica. Questo riscaldamento, che garantisce la conservabilità del latte, porta però anche alla denaturazione di alcuni enzimi, quale fosfatasi alcalina e, totalmente o parzialmente, di alcune siero-proteine.

Il latte che acquistiamo al negozio è un prodotto industriale che ha subito, oltre alla pastorizzazione, una serie di trattamenti meccanici e termici (pompaggio, raffreddamento, screatura, omogeneizzazione, confezionamento ecc.), al fine di garantire un livello di qualità del prodotto elevato e costante, una piena sicurezza di consumo e la sua conservabilità.

È doveroso ricordare, anche se ampiamente noto, che un latte vaccino di qualità si produce attraverso una filiera virtuosa, in cui entrano in gioco fattori molto diversi fra loro, come la salute degli animali, la loro alimentazione, l'igiene della stalla, le modalità di mungitura e raccolta del latte. Se si rispettano questi protocolli di produzione, il latte rappresenta un importante elemento della nostra dieta quoti-

diana, altrimenti può essere, in casi estremi, perfino pericoloso quando non dannoso per i consumatori. Può essere, infatti, oggetto di diverse contaminazioni, quali la presenza di residui di antibiotici o di aflatossine.

I nuovi indirizzi della Scienza dell'Alimentazione hanno cercato di valorizzare, dal punto di vista biologico, alcune delle sue componenti minori, per fornire al consumatore una serie di nuovi ingredienti, prodotti e formulazioni capaci di soddisfare esigenze nutrizionali specifiche molto particolari.

Alcuni dei problemi tecnologici e di sicurezza alimentare e nutrizionale del settore lattiero-caseario sono stati affrontati e risolti grazie all'impiego delle tecnologie separate mediante membrane.

Le tecnologie di membrana nel settore lattiero-caseario

Il termine tecnologia di membrana (TM) è usato per rappresentare collettivamente i processi di separazione, principalmente in fase liquida, che impiegando filtri specifici, costituiti da membrane semi-permeabili, generalmente di materiale polimerico, ed utilizzando tecniche filtranti diverse, permettono il frazionamento del latte nelle sue principali componenti³.

Le TM hanno rinnovato radicalmente il settore lattiero-caseario. Lo sviluppo di nuove membrane specifiche per tale comparto ha consentito di usarle nell'industria per vari scopi: estendere la vita di scaffale del latte pastorizzato (latte microfiltrato), standardizzarne le componenti durante tutto l'anno, ottenere nuovi prodotti a base di latte, soddisfare le nuove esigenze dei consumatori (è il caso del latte delattosato), concentrare il latte mediante la rimozione di una quota di acqua costitutiva^{4,5,6}.

² Brandsch, M., Brust, P., Neubert, K., Ermisch, A. (1994). *β-Casomorphins and Related Peptides: Recent Developments*. VCH-Weinheim, Germany, V. Brantl and H. Teschemacher.

³ Kumar, P., Sharma, N., Ranian, R. et al. (2013). *Perspective of Membrane Technology in Dairy Industry: A Review*. Asian-Australian Journal of Animal Science, Sept. 26(9): 1347-1358.

⁴ Pizzichini, M., Russo, C. (2001). Il siero di latte: da rifiuto zootecnico a materia prima per prodotti alimentari e farmaceutici. L'Informatore Agrario, 16: 49-53.

⁵ Pizzichini, M., Russo C., Feliziani, P. (2004). Sviluppo di integratori alimentari a base di siero di latte - Ricerche e innovazione nell'industria alimentare. Ciseta, volume VI, Chirietti, 965-971.

⁶ Pizzichini, M. (2006). *Tecnologie di processo per il recupero e la valorizzazione delle componenti del siero di latte*. Prima Print. Ed., Enea.

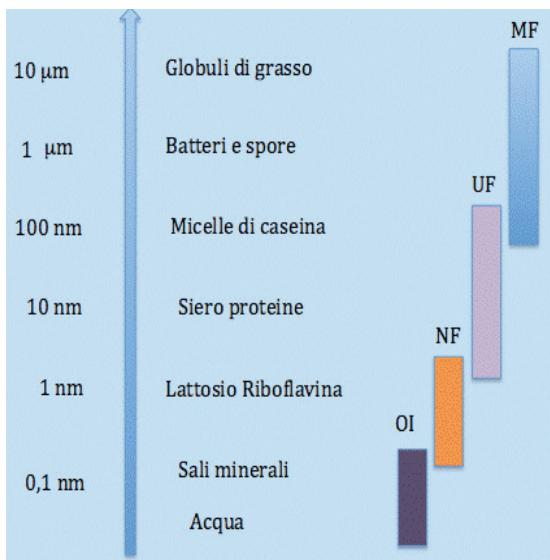


Figura 1 – Dimensioni molecolari dei costituenti del latte e relative tecniche separate a membrana.

Nessuna nuova tecnica, per quanto innovativa, è capace di eseguire queste delicate separazioni, non soltanto a livello teorico, ma soprattutto a livello di produzione industriale.

La Figura 1 indica quale tecnica di membrana è più idonea alla rimozione dei costituenti fondamentali del latte. È evidente che applicando l'osmosi inversa (OI) direttamente sul prodotto si elimina solo l'acqua. Se si vogliono separare i globuli di grasso o le spore, la tecnica ottimale è quella della microfiltrazione. L'ultrafiltrazione permette di separare le proteine dalle altre componenti mentre per rimuovere il lattosio si deve impiegare la nanofiltrazione (NF).

Ogni tecnica di membrana non soltanto impiega membrane con porosità diverse, ma richiede anche una gestione operativa ottimale, basata sulla regolazione di alcuni parametri, come pressione, portate, e temperatura (Tabella 2, pubblicata a pagina 42), e può essere impiegata scegliendo diverse geometrie filtranti, cioè in relazione alla conformazione della membrana, che può essere

piana, a forma tubolare e a fibre cave. Le membrane a fibre cave, pur esibendo una grande superficie filtrante per volume di ingombro del modulo, non sopportano pressioni superiori ai 2 bar. Esse sono state utilizzate in passato per la concentrazione del latte nella produzione dello yogurt, ma ora sono state sostituite dalle membrane a spirale avvolta in quanto più affidabili e resistenti alla pressione.

Le TM costituiscono una scelta logica per il frazionamento del latte perché molti suoi componenti possono essere separati fra loro, sulla base delle dimensioni molecolari (Figura 1)⁷.

Si possono scegliere ed utilizzare sistemi filtranti di natura polimerica strutturati in forme diverse (tubolari, piani, a fibre cave), ma anche di materiale ceramico organizzato in moduli cilindrici con fori longitudinali passanti, che si applicano prevalentemente nella microfiltrazione del latte ai fini della bonifica micribia.

Nella Figura 2, pubblicata a pagina 42, sono rappresentate le dimensioni molecolari dei globuli di grasso, delle proteine e dei peptidi bioattivi, in modo da comprendere in che forma sono organizzate le componenti del latte. In realtà, queste molecole, spesso di forma sferica, non sono affatto libere nella matrice latte, ma interagiscono chimicamente sia fra loro, con legami deboli, sia con lattosio e sali minerali, ragion per cui le separazioni mediante processi a membrana non sono così semplici e scontate come può apparire; tra l'altro, sulle membrane si formano dei film di deposito che rallentano la permeazione⁸. Le diverse tecniche di membrana impiegano filtri specifici per separare le molecole di interesse, come indicato in Figura 2, ma devono essere usati in condizioni idrauliche molto diverse, in cui, ad esempio, la pressione varia dai 2 bar nella MF ai 15 della NF, fino anche ai 60 bar nella OI. Anche il meccanismo di separazione attraverso la membrana è diverso a seconda della tecnica specifica: avviene per esclusione (setaccio molecolare) nella MF ed in

⁷ Brans, G., Schroen, C.G.P.H., et al. (2004). Membrane fractionation of milk: state of the art and challenges. *J. Memb. Sci.*, 243: 263-272.

⁸ Anand, A., Hassan, A., Avadhanula, M. (2012). The effect of biofilm formed on whey reverse osmosis membrane on the microbial quality of the concentrated product. *Int. J. Dairy Tecchnol.*, 65: 451-455.

Tabella 2
Caratteristiche delle diverse tecnologie di membrana in relazione alle condizioni di esercizio

MICROFILTRAZIONE	ULTRAFILTRAZIONE	NANOFILTRAZIONE	OSMOSI INVERSA
Separa particelle (batteri, lieviti, S.S.)	Separa macromolecole (proteine)	Separa sali minerali bivalenti e soluti con PM> di 200 D	Separa soluti a bassi PM (sali, zuccheri)
Pressione osmotica trascurabile	Pressione osmotica trascurabile	Pressione osmotica indipendente da NaCl	Pressione osmotica alta (7-30 bar)
Pressione applicata (<2 bar)	Pressione applicata (1-10 bar)	Pressione applicata (10-20 bar)	Pressione applicata (10-70 bar)
Membrana simmetrica (non sempre)	Membrana simmetrica	Membrana simmetrica	Membrana asimmetrica
Spessore attivo (10-150 mm)	Spessore attivo (0,1-1,0 mm)	Spessore attivo (0,1-1,0 mm)	Spessore attivo (0,1-1,0 mm)
Separazione per esclusione	Separazione per esclusione	Separazione per solubilizzazione-diffusione	Separazione per solubilizzazione-diffusione

parte nell'UF, mentre per la NF e l'OI il meccanismo chimico-fisico di permeazione è del tipo solubilizzazione-diffusione⁹.

L'intasamento delle membrane durante i cicli di lavoro richiede una procedura di lavaggio e ri-condizionamento dei filtri molto particolare per il settore lattiero-caseario perché, oltre a rimuovere il deposito che si forma sulle membrane in modo da ripristinare la produttività iniziale, è anche necessario sterilizzare gli impianti per evitare la proliferazione microbica¹⁰.

Nella Figura 3 si riporta l'immagine di un impianto pilota di microfiltrazione e di ultrafiltrazione per il trattamento rispettivamente di bonifica microbica e di produzione di sieroproteine.

In orizzontale, sopra le pompe, si vede il contenitore (vessel) in acciaio inox che contiene un modulo filtrante di ultrafiltrazione a spirale avvolta con una superficie di 7,2 m². Sulla destra della Figura sono installati, in verticale, due vessel per moduli ceramici di microfiltrazione.

L'acqua contenuta nel latte ha un effetto penalizzante su tutta l'industria casearia perché richiede impianti relativamente grandi per lavorare una materia prima diluita: serbatoi, pa-

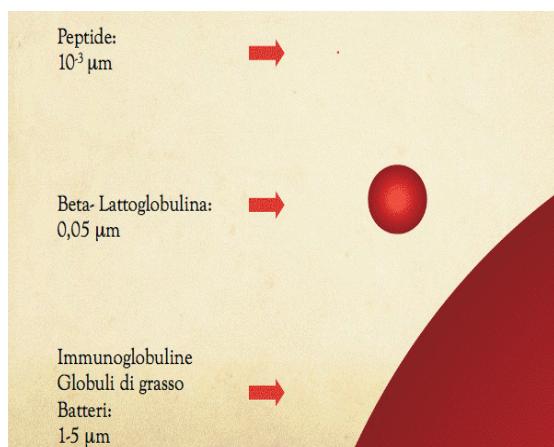


Figura 2 – Dimensioni molecolari in scala delle proteine e dei peptidi bioattivi.

storizzatori, polivalenti e le stesse dimensioni degli stabilimenti. Utilizzare nel ciclo caseario una materia prima latte più concentrata, per rimozione di una parte dell'acqua, ad esempio per OI, potrebbe risultare vantaggioso. La concentrazione del latte può servire a risolvere altri problemi pratici, come, ad esempio, quelli che si registrano nella Piana del Sele (SA), fa-

⁹ Cheryan, M. (1986). *Ultrafiltration Handbook*. ISBN No. 87762-456-9.

¹⁰ D'Souza, N.M., Mawson, A.J. (2005). *Membrane cleaning in the Dairy industry: A Review*. Food Science and Nutrition, 45, 2: 125-134.



Figura 3 – Impianto pilota di microfiltrazione e di ultrafiltrazione.

mosa per la sua grande produzione di latte di bufala, che poi genera la famosa mozzarella campana. I caseifici, soprattutto nel periodo invernale, in cui il consumo della mozzarella si riduce, sono costretti a congelare il latte per poi scongelarlo nel periodo estivo (pratica, peraltro, non contemplata dal disciplinare della Mozzarella di Bufala campana Dop). Questo congelamento richiede un consumo energetico non indifferente e crea tutta una serie di problemi legati alla conservazione del latte congelato per alcuni mesi. Il congelamento potrebbe essere convenientemente facilitato concentrando previamente il latte mediante tecniche di OI, che permettono di ridurre il contenuto d'acqua anche del 70%.

Il processo ottimale di concentrazione del latte

è quello di procedere prima alla scrematura, per poi passare al trattamento in OI della fase magra per allontanare l'acqua. Questo processo consente di ridurre notevolmente il volume del latte da congelare e, quindi, di risparmiare nel consumo di frigorie e di guadagnare in termini di rese di caseificazione quando il prodotto viene scongelato per la produzione di mozzarella.

Ormai il procedimento di concentrazione del latte per OI è messo a punto e può essere tecnicamente effettuato direttamente in caseificio. In questo processo di osmosi inversa tutte le componenti fondamentali del latte non vengono rimosse e, quindi, la qualità dei derivati caseari è garantita.

Bonifica microbica a freddo con tecniche di microfiltrazione

Lo sviluppo di nuove membrane ceramiche avvenuto nei primi anni '90 ha consentito di rimuovere fisicamente dal latte tutte le componenti cellulari, microbiche e non, senza dover utilizzare il calore¹¹. Spesso si utilizza la microfiltrazione

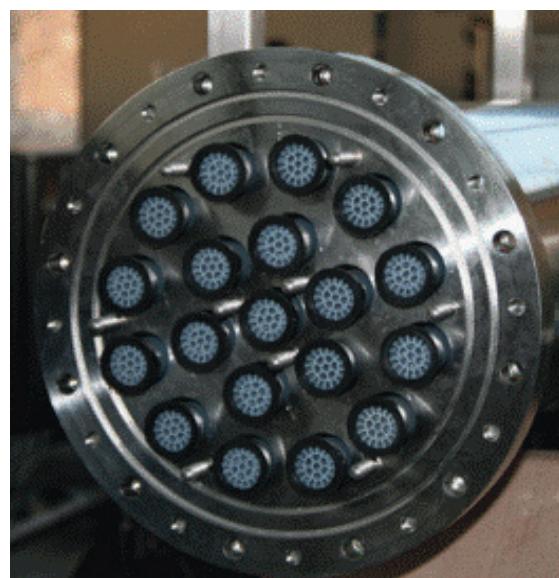


Figura 4 – Modulo con membrane ceramiche per la bonifica microbica a freddo.

¹¹ Fauquant, J., Moubois, J.L., Pierre, A. (1988). *Microfiltration du lait sur membrane minérale*. Tech Laitière Mark, 1028: 21-23.

Tabella 3
Effetto della microfiltrazione del latte sul permeato e sul retentato

FAMIGLIE DI SOLUTI	COMPOSTI CHIMICI	RENTENTATO	PERMEATO
	Conducibilità ($\mu\text{S}/\text{cm}$)	6,114	6,227
	pH	6,1	6,36
Glucidi (g/l)	Lattosio	33,02	35,06
	Glucosio	4,46	4,87
	Galattosio	3,83	4,31
	Totale	41,31	44,24
Sieroproteine (g/l)	α -Lattalbumina	1,557	1,369
	Lattoferrina	0,439	0,264
	BSA	-	-
	β -Lattoglobulina	3,148	3,098
	Lattoperossidasi	0,686	0,383
NPN (g/l)	Immuno globuline	1,207	0,780
	Azoto proteico	9,604	8,708
Materia grassa (g/l)	Azoto non proteico	2,640	2,460
	Acidi grassi totali	36,91	0,08

accoppiata con un blando trattamento termico per rimuovere eventuali batteri patogeni¹². Nella Figura 4, pubblicata a pagina 43, si riporta l'immagine di un modulo con 19 moduli ceramici di allumina e zirconia, avente un taglio molecolare di 0,14 μm per la bonifica microbica del latte. Queste membrane sono molto resistenti agli agenti chimici. Per tale motivo hanno una durata praticamente illimitata, ma richiedono anche un consumo energetico non trascurabile perché il fluido da trattare deve essere inviato all'interno dei canali ceramici con una velocità di scorrimento di circa 5-7 m/s. Questo parametro, in termini pratici, significa che il modulo di Figura 4 deve essere alimentato con una portata di latte di circa 100 m³/h. Generalmente, l'efficienza di rimozione della carica batterica del latte, con tecniche di microfiltrazione ceramica, si attesta sul 98%, ma dipende dalle condizioni operative del

processo.

La microfiltrazione non ha effetto sulla componente salina e glucidica del prodotto mentre riduce di circa il 2% quella proteica, come si può vedere nella Tabella 3, in cui si riporta la composizione del permeato e del retentato del processo di MF. È necessario considerare che la tecnica di MF rimuove tutti i batteri presenti, comprese le cellule di quelli morti ed i loro enzimi, che quindi non vanno a contaminare il latte prodotto. Per questo la shelf-life del latte microfiltrato è superiore a quello ottenuto sia con la sola pasteurizzazione che associandovi la battofugazione^{12,13}.

L'industria delle sieroproteine

Oggi si producono migliaia di tonnellate/giorno di sieroproteine per uso alimentare e per la produ-

¹² Ciffee, M. G., van der Horst (2006). Comparison between bactofugation and microfiltration regarding efficiency of somatic cell and bacteria removal. Bull Int. Dairy Fed., 389: 49-53.

¹³ Saboya, L.V., Moubois, J.L. et al. (2000). Current developments of microfiltration technology in dairy industry. Lait, 80:541-553.

zione di integratori alimentari, come le note *Whey Protein Concentrate* (WPC). Il grande successo commerciale delle WPC è direttamente legato all'impiego delle tecniche di ultrafiltrazione^{5,7,14}. In realtà, il siero è un prodotto straordinario, di grande valore salutistico, non solo perché le sieroproteine in esso contenute hanno il più alto indice di biodisponibilità (97%), ma perché tali proteine sono ricchissime di aminoacidi essenziali, quelli che l'organismo deve assumere col cibo. Fra questi aminoacidi la cisteina è uno dei più importanti perché conduce alla sintesi del glutathione, il principale antiossidante endogeno¹⁵. La ricerca ha consentito di dimostrare che si possono recuperare tutte le componenti chimiche del siero di latte: sieroproteine, lattosio e riboflavina, sali minerali e un'acqua denominata "ac-

qua animale" perché deriva dal latte-siero. La presenza di queste componenti nella matrice garantisce un incremento del valore aggiunto del prodotto finale^{1,16}.

Nella Figura 5 si riporta lo schema di frazionamento del siero di latte con tecniche di membrana. Come si può constatare dalla raffigurazione, il processo si basa sull'impiego di diverse tecniche di filtrazione a membrana, che vanno dalla microfiltrazione fino all'osmosi inversa. Lo schema, in realtà, ha una valenza più generale anche per il latte stesso, il che dimostra come le tecniche di membrana consentono di frazionare selettivamente le componenti del latte. In particolare, la microfiltrazione (MF) serve a rimuovere la carica batterica del siero o del latte; l'ultrafiltrazione (UF) serve ad estrarre e concentrare le sie-

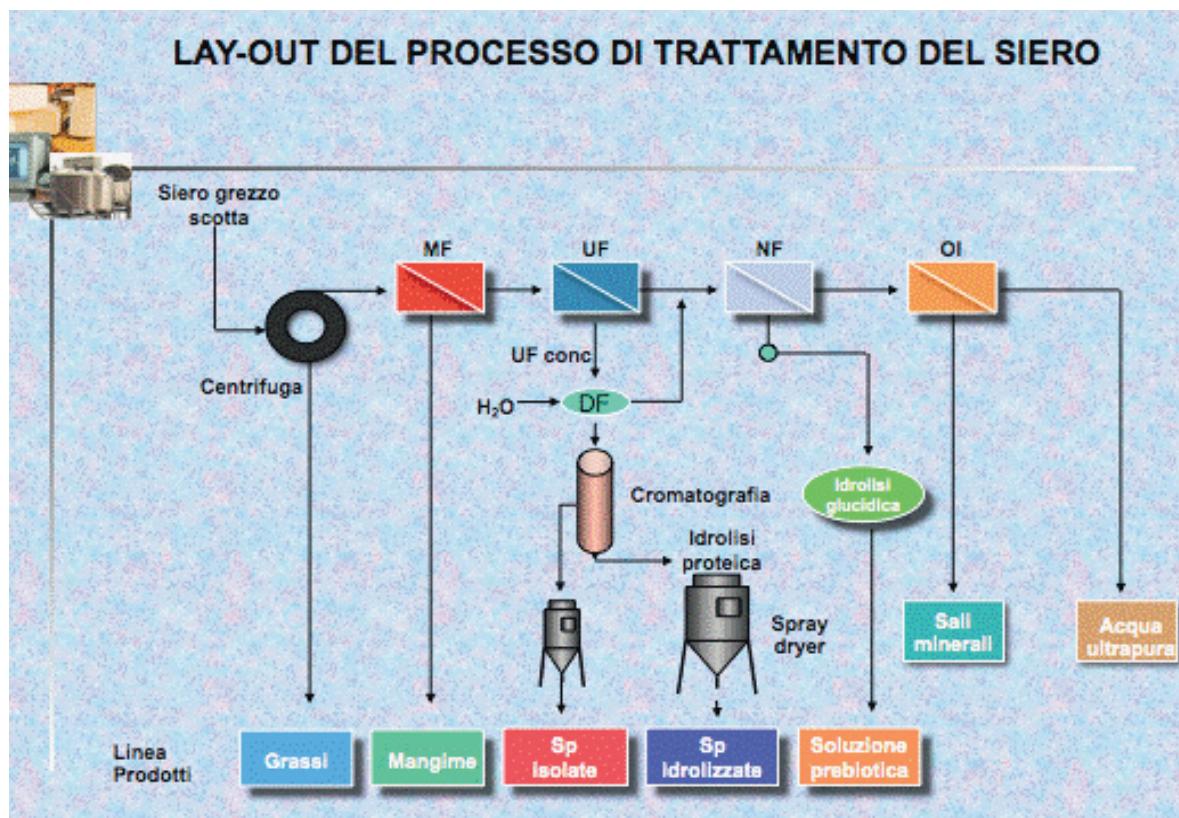


Figura 5 – Schema di frazionamento del siero di latte con tecniche di membrana.

¹⁴ Fernandez Garcia, L., Riera Rodriguez, F.A. (2013). *Combination of microfiltration and heat treatment for ESL milk production: Impact on shelf life*. J. of Food Engineering, 128: 1-9.

¹⁵ Marchal, K. (2004). *Therapeutic applications of whey protein*. Alternative Medicine Review, vol. 9, n. 2.

¹⁶ Pizzichini, M., Agnelli, A., Giaccone, V., Mucciolo, C. *Progettazione di un impianto innovativo per il trattamento del siero di bufala*. Industrie Alimentari, n. 53, luglio-agosto 2014, pp. 5-13.



Figura 6 – Siero ultrafiltrato (sinistra) e microfiltrato (destra).

qua ultra pura (è sterile quando esce dall'OI), ha una bassa concentrazione salina (conducibilità elettrica 80 $\mu\text{S}/\text{cm}$) ed un rapporto Na/K di 0,36), che può essere utilizzata come bevanda isotonica o per la preparazione di specialità alimentari e farmaceutiche.

Il siero proveniente dal permeato di MF, che ha la funzione di eliminare la carica batterica (lattica e non), si può ultrafiltrare con una membrana polimerica generalmente a spirale avvolta, avente un taglio molecolare di circa 10-20 kDalton (dimensione dei pori del filtro). Nella Figura 6 si riporta, a sinistra, l'immagine del siero ultrafiltrato e, a destra, di quello microfiltrato, che risulta opalescente per la presenza di sieroproteine.

Nel grafico di Figura 7 troviamo l'andamento del flusso di permeato dell'UF del siero, in funzione del tempo di filtrazione, a fronte di un

roproteine e le caseine; la nano-filtrazione (NF) serve a concentrare il lattosio, che poi viene idrolizzato per produrre una bevanda; l'osmosi inversa (OI) ha la funzione di eliminare i sali minerali (nel concentrato) e di raccoglie un'ac-

rapporto volumetrico di concentrazione fra l'alimento (siero) e il volume del concentrato di UF di oltre 10. Da questa operazione si ottiene un concentrato di UF liquido denso di colore ambrato che, successivamente, può essere atomizzato per produrre una polvere sieroproteica, che poi diventa quel prodotto commerciale che troviamo in farmacia oppure nei negozi sportivi di ogni genere. Si tratta di sieroproteine concentrate (le WPC), che, a differenza della ricotta, sono costituite da proteine native. Sulla base dello schema di Figura 7 è stato progettato un impianto industriale per trattare tutto il siero di bufala prodotto nella Piana del Sele (SA)¹⁶.

La delattosazione del latte

Il latte delattosato che si trova in commercio può presentare, comunque, una concentrazione di lattosio di circa 1 g/L, valore che può risultare troppo alto per alcune categorie di consumatori particolarmente intolleranti. Per questo motivo, sono stati realizzati latti speciali con un contenuto di lattosio inferiore a 100 mg/L, quindi 10 volte inferiore al comune delattosato.

Questo processo spinto di delattosazione si realizza impiegando in maniera specifica alcune tecniche di filtrazione a membrana accoppiate con l'impiego dell'enzima beta-galattosidasi per l'idrolisi del lattosio, che può essere anche utilizzata per la produzione dei galattosio-oligosaccaridi (GOS). Nella Figura 8 si riporta uno schema generale di delattosazione tratto dal brevetto Valio, US 2012/0034367 A919, integrato con una linea di produzione dei GOS.

Il latte di partenza deve essere sgrassato, omogeneizzato e pasteurizzato prima di entrare nel processo di UF. Il permeato di UF contiene sali minerali, lattosio, riboflavina e alcune frazioni peptidiche a basso peso molecolare. La NF permette di concentrare il lattosio fino a valori dell'ordine di circa 200g/L (quindi sufficiente per essere convertito enzimaticamente in GOS). Oltre al lattosio, la NF trattiene anche riboflavina, sali

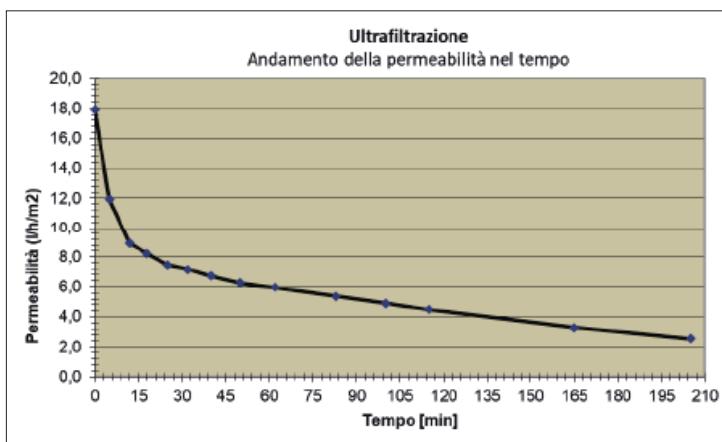


Figura 7 – Andamento del flusso di permeato nel processo di UF del siero di latte.

di calcio e fosfati, mentre lascia passare, come permeato, le componenti saline che vengono trattenute dallo stadio di osmosi, da cui si recuperano sali e acqua, che vanno a ricostituire il prodotto finale delattosato. Nel processo di Figura 8 è indicata un'operazione di membrana: la diafiltrazione. Si tratta di una procedura che si adotta per massimizzare l'estrazione delle componenti a più basso peso molecolare, aggiungendo acqua demineralizzata nel concentrato, per poi procedere nella filtrazione. Sulla base di questo schema di trattamento, sono stati sviluppati numerosi brevetti industriali che fanno capo alle grandi multinazionali lattiero-casearie europee come Arla Food¹⁷ e Valio^{18,19}. Questi brevetti si basano nell'accoppiare le tecniche di membrana, che sono sempre UF, NF ed OI, combinate in diversi modi, ma per otte-

nere sempre lo stesso risultato: un prodotto alimentare a bassissimo contenuto di lattosio, a partire dal latte vaccino.

I galattosio oligosaccaridi

I galattosio oligosaccaridi sono oligomeri di unità di galattosio legati con un glucosio terminale. Il capostipite di questa famiglia è il lattosio, che essendo idrolizzato dall'enzima beta galattosidasi genera i due monosaccaridi di cui è composto, cioè glucosio e galattosio.

I GOS sono degli importanti prebiotici, cioè sostanze in grado di stimolare la crescita di batteri benefici come i bifidobatteri presenti nell'intestino, che utilizzano questi composti come substrato preferito di crescita^{20, 21}. Si trovano naturalmente nel latte, ma in basse concentrazioni, mentre industrialmente si ottengono prevalentemente dall'idrolisi enzimatica del lattosio, previa concentrazione con NF, come indicato sommariamente nello schema di Figura 8 per il ciclo della delattosazione.

Partendo dal latte o dal siero, si prevede uno stadio di UF, da cui si ricavano proteine nel retentato, lattosio e sali minerali nel permeato. La NF sul permeato di UF consente di concen-

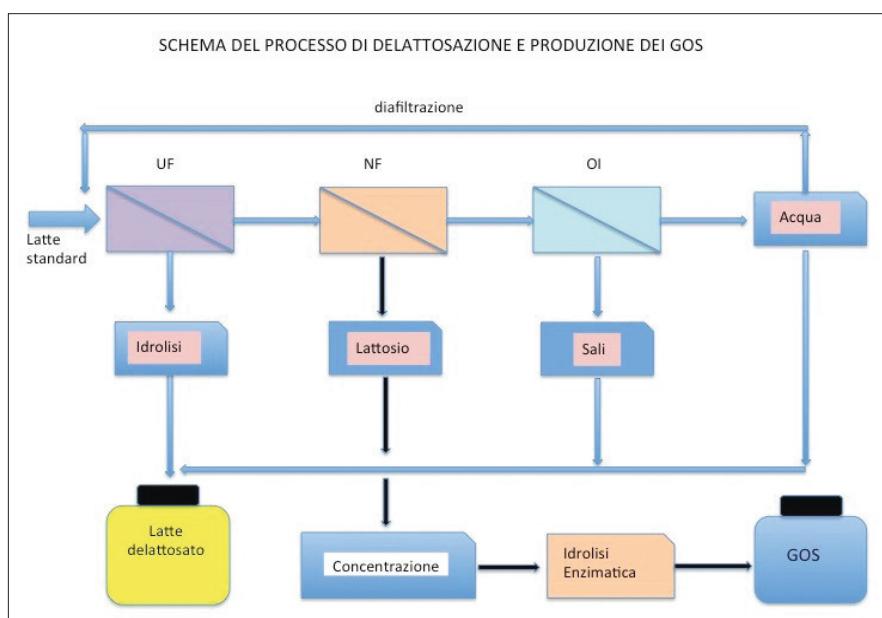


Figura 8 – Schema generale del processo di delattosazione spinto accoppiato con la produzione di GOS.

¹⁷ Holster et al., G. (2009). *Process for producing lactose-free milk*. Arla Fodd, Pun. n° US 2009/0092731A1, april 2009.

¹⁸ Tassavainen, O., et al. (2010). *Process for producing a lactose-free milk product*. Valio LTF, Pub n. 7,829130 B2, Nov.

¹⁹ Tassavainen, O., Sahlstein, J. (2012). *Lactose-free product and processes for producing the same*. Valio LTD, US Patent (2012)/0034367 A9.

²⁰ Vernazza, C. L., Rabiu, B. A., Gibson, G. R. (2006). *Human colonic microbiology and the role of dietary intervention: introduction to prebiotics*. In Gibson, G. R. and Rastall, R. A. (Eds). *Prebiotics: Development and Application*. Chichester: John Wiley and Sons Press, pag. 1-28.

²¹ Duarte Torres, P. M., Do Pilar, M., et al. (2010). *Galacto-Oligosaccharides: production, Properties, Applications and significance as prebiotics - Comprehensive Review*. In *Food Science and Food safety*, vol. 9, n. 5: 438-454.

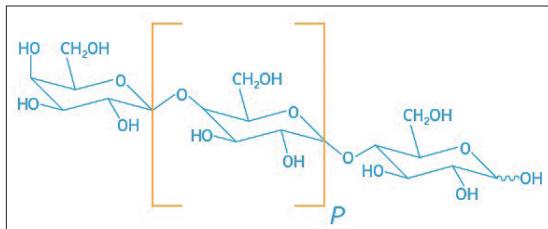


Figura 9 – Formula di struttura di un trimero di GOS (DP=3).



Figura 10 – Formula di struttura di un tripeptide del latte.

trare il lattosio vicino al 20%, ma per aumentare le rese in GOS si può rendere necessaria un'ulteriore concentrazione (fino al 50%), effettuata, ad esempio, per evaporazione. A questo punto, si può passare alla fase molto critica di idrolisi enzimatica, impiegando enzimi specifici presenti in batteri lattici, che mostrano buone rese di produzione dei GOS²². L'efficienza del processo di produzione dei galattosio oligosaccaridi dipende:

- dalla concentrazione del lattosio di partenza, generalmente vicino al 20% ed oltre fino al 60%;
- dalle caratteristiche biochimiche dell'enzima impiegato, generalmente varietà di batteri lattici²¹;
- dalla cinetica di formazione dei GOS, che è molto particolare perché è il risultato di una complessa attività enzimatica;
- dalla temperatura della reazione, che è leggermente diversa per tipo di batteri-enzima impiegati; generalmente l'optimum è compreso nell'intervallo 37-39 °C, con alcune eccezioni in cui la temperatura può salire a 45 °C;
- dal pH, che deve essere mantenuto intorno alla neutralità cioè 7.

Durante il processo enzimatico, in particolari condizioni chimiche, i monosaccaridi formati vengono assemblati in oligomeri costituiti da 2 a 4 monosaccaridi legati, che sono i GOS. Come detto, la resa di produzione dei galattosio oligosaccaridi dipende dalla concentrazione del substrato lattosio, che deve essere superiore ai 150 g/L, e da una bassa concentrazione salina, che ha un effetto inibitorio sulla cinetica di formazione dei GOS. La conversione enzimatica di lattosio in galattosio oligosaccaridi si traduce nella generazione di miscele contenenti GOS di diversi gradi di polimerizzazione (DP), lattosio non reagito e monosaccaridi (glucosio e galattosio).

I peptidi bioattivi

Il latte dei mammiferi (vacche, capre, pecore, bufali e cammelli) contiene, oltre alle componenti che forniscono elementi nutritivi basilari, sostanze deputate al potenziamento delle difese immunitarie, come le immunoglobuline, il lisozima, la lattoferrina, e sostanze bioattive per individui adulti e neonati, come i peptidi bioattivi (PB). Questi frammenti proteici derivano dalla rottura di α -, β -, κ -caseine e di alcune SP, in particolare della β -lattoglobulina e della α -lattalbumina. Tale frammentazione avviene naturalmente da parte degli enzimi proteolitici presenti nell'intestino (pepsina, tripsina) in seguito al consumo alimentare del latte oppure artificialmente ad opera degli enzimi che operano il processo di cagliatura (chimosina, chymotripsina) e dei lattobacilli durante la fermentazione lattica.

Nella Figura 10 si riporta la struttura chimica di un tripeptide bioattivo. Dalla frazione proteica del latte è possibile ottenere, a seguito di processi digestivi e di reazioni idrolitiche ad opera delle proteasi espresse proprio dai batteri lattici presenti nel latte, un pool di peptidi a peso molecolare basso, i quali possono essere separati e testati individualmente per le loro proprietà biologiche²³. I PB sono stati identificati

²² Hemmaratchirakul, J., Paturapiree, P., et al. (2015). Production of galactooligosaccharide by O-galactosidase from *Lactobacillus pentosus* var. *plantarum* BFP32. International Food Research Journal 22(6): 2550-2557.

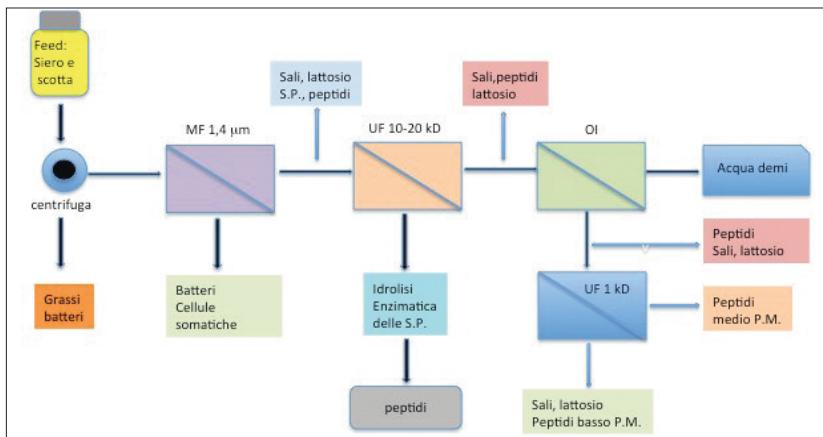


Figura 11 – Schema del processo di produzione dei PB a partire da siero e scotta ovina.

all'interno della sequenza amminoacidica delle proteine native del latte. Reazioni idrolitiche come quelle catalizzate dagli enzimi digestivi, ad esempio le proteasi, determinano il loro rilascio. Questi PB influenzano direttamente numerosi processi biologici, stimolando specifiche risposte fisiologiche a livello comportamentale, ormonale e gastrointestinale.

Esperti e ricerche sono state condotte da Pizzichini, M., Vitagliano, M. e Chianese, L.^{24, 25} per produrre PB direttamente dal siero e dalla scotta ovina con un processo messo a punto dagli autori e riportato nello schema di processo raffigurato in Figura 11. La scotta è quella matrice liquida che rimane dal siero di caseificazione dopo la precipitazione delle SP per via acido-termica. Entrambe le matrici sono ricche di PB ed è triste constatare che normalmente questi sottoprodotto caseari vengono versati nell'ambiente o impiegati per l'alimentazione dei suini, specialmente in Sardegna.

Come illustra lo schema, siero e scotta vengono prima centrifugati e poi trattati in MF per eliminare la carica batterica e le cellule somatiche presenti. Il permeato di MF passa alla fase di UF, da cui si recuperano sostanzialmente le SP, che

dopo un processo di idrolisi enzimatica generano una miscela di peptidi eterogenea, non tutti specificatamente con proprietà biomediche. Il permeato di UF contiene la maggior parte dei PB, che dopo concentrazione in OI sono nuovamente ultrafiltrati con una membrana a taglio molecolare di 1 kD. Da questa filtrazione si rileva la presenza di peptidi a catena corta, il cui peso molecolare è inferiore ai 400-500 dalton. Tale attività

viene attribuita anche ai peptidi riscontrati nella frazione idrolizzata con la tripsina pancreatico. Nel retentato di ultrafiltrazione si evidenzia, invece, la presenza di frammenti proteici a catena lunga ricchi in prolina e triptofano. Questi derivati proteici presentano interessanti omologie con peptidi antimicrobici di origine animale. I peptidi ottenuti possono essere utilizzati nella formulazione di alimenti funzionali e/o nella formulazione di latte per l'infanzia per soggetti intolleranti alle proteine del latte.

La presenza e la caratterizzazione dei PB nelle diverse fasi del processo indicato in Figura 11 sono state determinate dall'Università "Federico II" di Napoli con tecniche di spettrometria di massa^{24,25}. I peptidi bioattivi presentano numerose attività funzionali che influenzano positivamente i sistemi cardiovascolare, digestivo, endocrino, immunitario e nervoso. Nella Tabella 4 si riportano sinteticamente le specifiche proprietà biomediche dei PB, detti anche glico-macro-peptidi (GMP), indicando le proteine da cui provengono, la sequenza peptidica delle proteine di provenienza e le specifiche funzioni biomediche.

Le attuali conoscenze sul ruolo fisiologico e biochimico dell'azoto nutrizionale, che si sono svil-

²³ Mohanty, D. P., Mohapatra, S., et al. (2015). Milk derived bioactive peptides and their impact on human health – A Review. Saudi Journal of Biological Sciences, 23: 577-583.

²⁴ Pizzichini, M., Vitagliano, M., Pizzichini, D., Chianese, L., et al. (2007). Processo di recupero dei peptidi-bioattivi dal siero ovino mediante tecnologie di membrane. 8° Congresso Italiano di Scienza e Tecnologia degli Alimenti, Chiriotti Ed., pp. 148-155.

²⁵ Vitagliano, M. (2006). Tesi di Laurea in Scienze e Tecnologie Alimentari, Università "Federico II" di Napoli, relatore Chianese, L., correlatore Pizzichini, M., Enea.

Tabella 4
**Peptidi bioattivi isolati in lisati enzimatici di β -lattoglobulina bovina
e α -lattalbumina ottenuti con l'enzima tripsina**

SP DI ORIGINE	SEQUENZA PEPTIDICA	PESO MOLECOLARE	PUNTO ISOELETTRICO (PH)	FUNZIONE BIOMEDICA
β -LG	9-14	673	5,8	Ace inibitore
β -LG	15-19	696	5,1	Ace inibitore
β -LG	32-40	857	5,8	Ace inibitore
β -LG	78-83	546	5,5	Battericida
β -LG	92-100	1065	4,2	Battericida
β -LG	142-146	837	9,8	Ace inibitore
α -LA	1-5	-	-	Battericida
α -LA	99-108	-	-	Immunoregolazione

Iuppate nell'ultima decade, hanno mostrato che i frammenti peptidici, non solo forniscono gli amminoacidi all'organismo, ma sono anche regolatori fisiologici, sia direttamente, come neuromodulatori, che indirettamente, perché intervengono nella secrezione di ormoni ed enzimi dai recettori intestinali^{26, 27}.

Le tecnologie di membrana hanno consentito di ottimizzare la produzione dei PB sia dalla matrice latte che dal siero di latte, attraverso la separazione selettiva fra loro e la conseguente concentrazione. La produzione industriale dei PB è ormai consolidata e affermata in tutto il mondo: sono stati messi a punto i processi di idrolisi enzimatiche e di separazione delle specie bioattive, con tecniche di membrana e di cromatografia, nonché le fasi di purificazione e di caratterizzazione biochimiche per separare i PB in base alle loro proprietà biomediche, ma anche per impieghi diversi^{28, 29}.

Conclusioni

Le tecnologie di membrana hanno consentito uno sviluppo formidabile dell'industria lattiero-casearia. In questo comparto hanno ampliato l'offerta di nuovi prodotti e specialità alimentari, a tutto vantaggio della qualità e della sa-

lubrità dei nuovi preparati, che vanno dalle sieroproteine al latte delattosato, dai GOS ai peptidi bio-attivi.

Contemporaneamente allo sviluppo di nuovi prodotti caseari, hanno permesso di ideare sempre nuovi moduli filtranti attraverso l'impiego di innovativi materiali, il miglioramento delle prestazioni di filtrazione, la riduzione del fouling, lo sviluppo dell'ingegneria dei moduli a membrana.

Ma la sinergia fra membrane e prodotti caseari non si è certo esaurita e ci aspettano nuovi risultati commerciali tutti finalizzati ad incrementare l'offerta di nuove specialità nutrizionali a partire dalla matrice naturale del latte.

²⁶ Perpetuo, E.A., Juliano, I. (2003). *Biochemical and pharmacological aspects of two bradikinin-potentiating peptides obtained from tryptic hydrolysis of casein*. J. Protein. Chem, 22, 601606.

²⁷ Pihlanto-Leppälä, A. (2001). *Bioactive peptides derived from bovine whey proteins opioid and ace-inhibitory peptides*. Trends in Food & Science Technology (11): 347-356.

²⁸ Goulas, K., et al. (2009). *Process for the production of oligosaccharides*. pub. N° US 2009/0155860.

²⁹ Korhonen, H., Pihlanto, A. (2006). *Bioactive peptides: production and functionality*. vol.15, n. 9: 945-960.