

ALMA MATER STUDIORUM - UNIVERSITÀ DI BOLOGNA

CAMPUS DI CESENA

SCUOLA DI AGRARIA E MEDICINA VETERINARIA

CORSO DI LAUREA IN TECNOLOGIE ALIMENTARI

**Il latte di capra:
caratteristiche tecnologiche e strategie
biotecnologiche per il miglioramento
della qualità dei prodotti fermentati**

Relazione finale in

Microbiologia Industriale

Microbiologia degli Alimenti (C.I.)

Relatore

Dott.ssa Lucia Vannini

Presentata da

Lucia Valdinoci

Correlatore

Dott.ssa Giorgia Gozzi

Sessione unica

Anno Accademico 2017 – 2018

INDICE

1. IL LATTE E I PRODOTTI TRASFORMATI DI CAPRA	1
1.1. MERCATO DEL LATTE DI CAPRA E TRASFORMATI	2
1.2. IL LATTE	4
1.3. INDICI CHIMICO-FISICI	12
1.4. ASPETTI NUTRIZIONALI	14
2. ASPETTI TECNOLOGICI DELLA LAVORAZIONE DEL LATTE DI CAPRA	15
2.1. TRATTAMENTI DEL LATTE	16
2.2. EFFETTO DI TRATTAMENTI TERMICI APPLICATI AL LATTE CAPRINO	17
2.3. PROCESSO DI PRODUZIONE DEI DERIVATI LATTIERO-CASEARI	19
2.4. PROBLEMATICHE TECNOLOGICHE DELLA LAVORAZIONE DEL LATTE DI CAPRA	20
2.5. STRATEGIE PER CONTRASTARE LE PROBLEMATICHE TECNOLOGICHE DEL LATTE DI CAPRA	23
3. STRATEGIE PER MIGLIORARE LE CARATTERISTICHE REOLOGICHE E STRUTTURALI DEI PRODOTTI FERMENTATI	24
3.1. PREMESSA	25
3.2. AGGIUNTA DI SOSTANZA SECCA	25
3.2.1. SIEROPROTEINE	26
3.2.2. LATTE SCREMATO IN POLVERE	29
3.2.3. INGREDIENTI ALTERNATIVI NELLA FORMULAZIONE DI LATTI FERMENTATI	31
3.2.4. CONCENTRAZIONE MEDIANTE PROCESSI FISICI	35

4. TRATTAMENTI BIOTECNOLOGICI PER MIGLIORARE LE CARATTERISTICHE REOLOGICHE E STRUTTURALI DEI PRODOTTI FERMENTATI	40
4.1. TRANSGLUTAMINASI MICROBICHE	41
4.2. CARATTERIZZAZIONE TECNOLOGICA DI BATTERI LATTICI ISOLATI DA DERIVATI DI LATTE DI CAPRA	45
4.3. ESOPOLISACCARIDI	51
4.3.1. USO DI BATTERI PRODUTTORI DI ESOPOLISACCARIDI NEI PRODOTTI LATTIERO-CASEARI	54
4.3.2. PROSPETTIVE INERENTI FUTURI STUDI E RICERCHE SUI CEPPI PRODUTTORI DI ESOPOLISACCARIDI	63
5. CONCLUSIONI	65
6. BIBLIOGRAFIA E SITOGRAFIA	67

CAPITOLO 1

IL LATTE E I PRODOTTI TRASFORMATI DI CAPRA

1.1 MERCATO DEL LATTE DI CAPRA E TRASFORMATI

Il latte di capra è una delle principali fonti di proteine animali, calcio e fosforo in molte regioni del Medio Oriente, sud Asia e alcuni continenti tropicali. I prodotti derivati da questo tipo di latte sono considerate specialità gastronomiche che stanno diventando più popolari negli USA e in altri stati sviluppati. Si prevede che l'industria del latte caprino continuerà a crescere nei prossimi 10 anni.

Attualmente la produzione di latte caprino è concentrata principalmente in Asia (52,7%) ed Africa (25,7%). L'Europa (16,6%) e l'America (4,9%) contribuiscono in misura minore alla produzione mondiale di latte di capra, mentre la produzione in Oceania è ancora trascurabile (<0,1%). Sebbene la popolazione caprina si concentri maggiormente nelle zone aride e nei paesi a basso reddito, si trovano allevamenti caprini da latte anche nei paesi ad alto reddito e tecnologicamente avanzati. La resa media mondiale di latte è superiore a quella delle pecore da latte e varia ampiamente da continente a continente (da 49 a 290 L/capra), in base all'attitudine produttiva ed al livello tecnico degli allevamenti e dell'industria lattiero-casearia. La più alta produzione di latte per capra si ha in Europa, che produce il 16,6% del latte di capra mondiale con solo il 4,3% della popolazione di caprini.

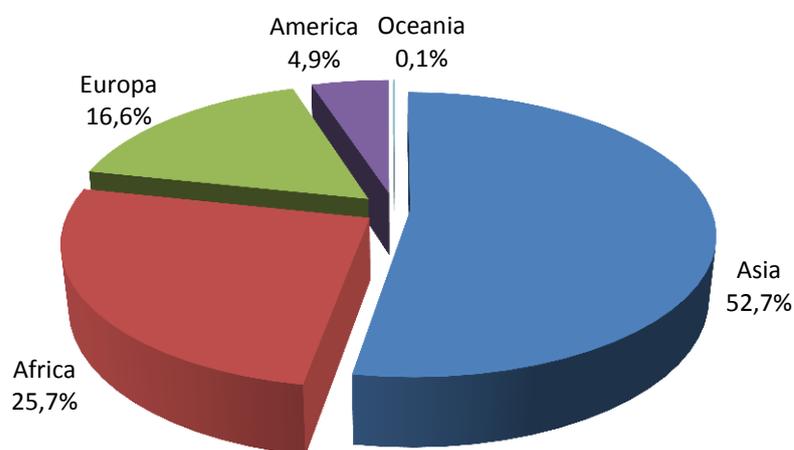


Figura 1: produzione mondiale di latte caprino, anno 2016
(elaborazione dati FAOSTAT)

Nel panorama produttivo del settore lattiero-caseario italiano, i formaggi di origine caprina rappresentano una realtà molto significativa e soprattutto degna di sviluppo. Mentre l'allevamento caprino e le sue produzioni sono predominanti in Asia e Africa,

tra i Paesi europei, in ambito comunitario, solo pochi producono latte caprino ai fini della caseificazione, come si può vedere dalla figura 2: Grecia, Italia e Francia.

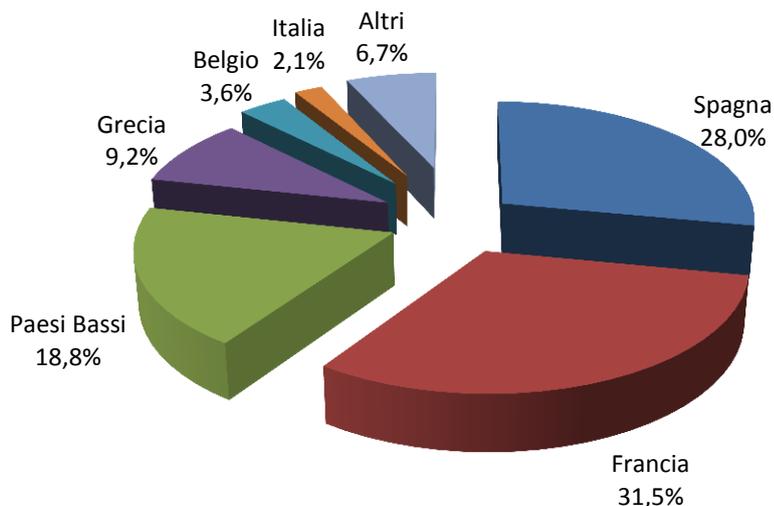


Figura 2: produzione di latte di capra per paese, scenario comunitario UE, quota 2016 (fonte: ISMEA)

Complessivamente Francia, Grecia, Italia e Spagna producono il 49,2% del latte di capra delle regioni del Mediterraneo e del Mar Nero, ed il 9,4% del latte di capra mondiale (FAOSTAT, 2018). Occorre però constatare che la maggior parte delle razze caprine ha un duplice impiego (latte e carne) e quindi solo alcuni allevamenti sono specializzati nella produzione di latte. Nei Paesi europei prima citati, le capre da latte vengono allevate in regioni ampie, utilizzando principalmente razze locali e sistemi estensivi e transumanti. La produzione di latte dimostra medi margini di miglioramento in termini di produttività di latte in Italia e Grecia, rispettivamente 153 e 250 l/capra, mentre in Spagna e Francia i margini sono più alti, rispettivamente 422 e 589 l/capra.

Nell'ambito dell'Unione Europea, l'Italia è il sesto produttore di latte di capra (preceduta da Francia, Spagna, Olanda, Grecia e Belgio) e il terzo per produzione di formaggi (preceduta da Francia e Grecia). Mentre a livello mondiale tra i produttori di latte caprino l'Italia si classifica al 41° posto (il maggior produttore mondiale è l'India) (dati ISTAT: censimenti dell'Agricoltura e rilevamenti intercensuari).

Nel nostro paese il latte caprino rappresenta l'1% del latte usato per la produzione di formaggi (94% vacca, 4% pecora, 2% bufala/misto) (fonte: CLAL)

La produzione casearia caprina in Italia è concentrata prevalentemente nel centro-meridione, nelle isole maggiori e anche sull'arco alpino, in zone in genere svantaggiate.

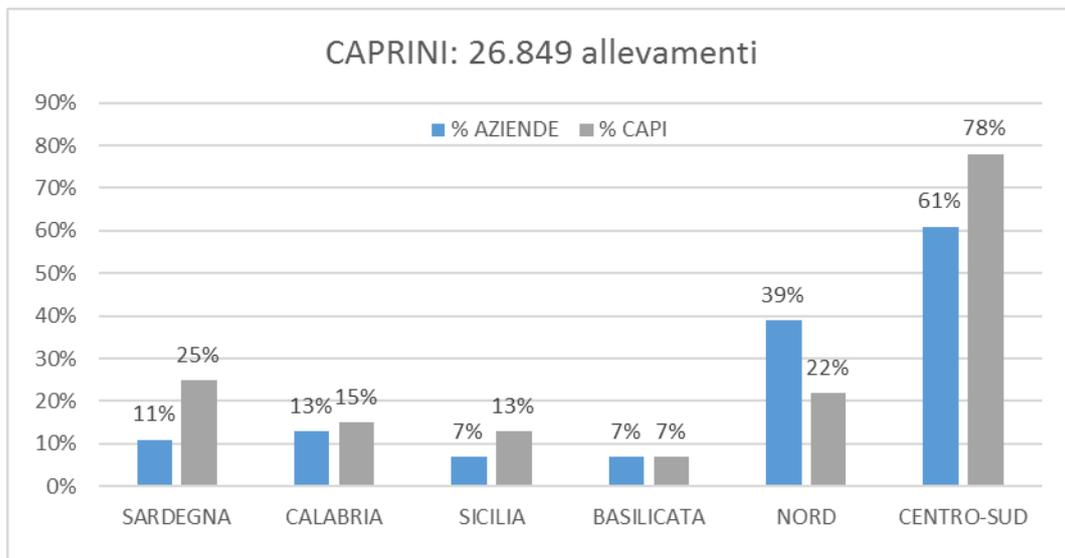


Figura 3: diffusione degli allevamenti caprini in Italia (fonte: *Struttura delle aziende agricole, SPA 2013-ISTAT*)

1.2 IL LATTE

Il latte è definito dalla legislazione come il prodotto ottenuto dalla mungitura regolare, completa e ininterrotta di animali in buono stato di salute e di alimentazione e in corretta lattazione (Dir. CEE 92/46 del 1992). È un liquido bianco e opalescente di composizione complessa e variabile in funzione di diversi parametri, compresi anche la razza e lo stato di lattazione, che viene secreto dalle ghiandole mammarie di animali mammiferi subito dopo il parto, in quanto la sua funzione fondamentale è quella di essere l'alimento esclusivo dei piccoli durante la prima fase della loro vita, e da questo ne deriva la sua complessità a livello chimico-fisico e compositivo.

La parola "latte" identifica il latte di provenienza vaccina, quindi se prodotto da altri mammiferi deve essere specificato in etichetta.

Indipendentemente dalla specie di provenienza, il latte è descrivibile come la risultante di tre fasi in equilibrio tra loro (Mucchetti e Neviani, 2006):

- un'emulsione di olio in acqua, in cui i globuli di grasso sono dispersi in una fase "sierosa" continua;
- una sospensione colloidale di caseina organizzata in micelle, proteine globulari e lipoproteine;
- una soluzione di lattosio, proteine solubili, sali minerali e vitamine.

Il latte è composto da quattro costituenti principali oltre all'acqua, presente in maggior quantità:

- **Carboidrati:** rappresentati essenzialmente dal lattosio e sono presenti in soluzione;
- **Lipidi:** costituiti principalmente da trigliceridi e sono presenti in emulsione sotto forma globulare;
- **Proteine:** presenti in forma colloidale;
- **Sali minerali e vitamine:** presenti in soluzione, se idrosolubili, o in emulsione, soltanto le vitamine liposolubili.

Il contenuto medio delle diverse componenti nel latte di diverse specie varia in funzione del ciclo di lattazione, dello stato di salute dell'animale e della specie. La struttura del latte delle differenti specie è generalmente simile (tabella 1), ciò che varia è la quantità di questi componenti che si traduce in proprietà a volte molto diverse.

Tabella 1: *Composizione media percentuale del latte di diverse specie di interesse caseario.*

Componente	Vacca	Capra	Pecora
Acqua	87,5	86,9	81,3
Lipidi	3,6-4,5	3,7-4,3	4,5-7,5
Proteine	2,8-3,3	3,1-4,5	4,6-6,0
Lattosio	4,4-5,0	4,0-4,7	4,1-4,9
Ceneri	0,6-0,9	0,7-1,1	0,9-1,1

(adattata da Salvadori Del Prato, 2004)

a. CARBOIDRATI

Il lattosio è il principale zucchero presente nel latte. La sua concentrazione è pressoché stabile ed indipendente dalla fase di lattazione in quanto fattore limitante della produzione di latte: di fatti se la concentrazione di lattosio non è adeguata si modificano gli equilibri osmotici all'interno della cellula lattifera della mammella e viene bloccata la sintesi di latte, quindi è la componente meno variabile.

Sintetizzato a partire dal glucosio, presente nel sangue dell'animale, e dal galattosio, lo zucchero è soggetto a mutarotazione, quindi nella matrice latte si trovano in equilibrio sia la forma α , anche se in minor quantità, che la forma β . Da questo equilibrio dipendono le caratteristiche di solubilità e tessitura e la stabilità dei prodotti essiccati o

liofilizzati, ma a causa della sua solubilità leggermente scarsa e delle differenti condizioni necessarie alla cristallizzazione delle due forme, deriva il cosiddetto “difetto sabbioso”, che si può verificare quando si reidrata del latte precedentemente essiccato o liofilizzato. È il componente responsabile del sapore dolce del latte, nonostante il suo potere dolcificante non sia molto elevato ed assume un ruolo rilevante non solo a livello nutrizionale, essendo l’unica fonte per i piccoli mammiferi di galattosio, costituente dei tessuti nervosi, ma anche dal punto di vista tecnologico in quanto è il substrato dei principali microrganismi responsabili delle fermentazioni. Occorre comunque ricordare che può anche essere causa di alterazioni indesiderate di colore, sapore e odore dovute al suo utilizzo come substrato da parte di microflora selvaggia o a causa di reazioni innescaresi durante alcune fasi di lavorazione (Salvadori Del Prato, 2004).

Come si può notare nella tabella 1, il latte di capra possiede un quantitativo di lattosio di poco inferiore al latte vaccino.

b. LIPIDI

La frazione lipidica è la più variabile. Costituisce la fase in emulsione nel latte e si compone di trigliceridi, fosfolipidi, steroli e tracce di acidi grassi liberi, tocoferoli e caroteni. La composizione dei trigliceridi risulta molto varia, soprattutto a causa della varietà degli acidi grassi che li compongono che si differenziano sia nella lunghezza della catena, che per numero di insaturazioni: di fatti esistono più di 150 acidi grassi differenti a numero pari di atomi di carbonio compresi tra C_4 e C_{28} .

I lipidi si presentano sotto forma globulare; i globuli sono sferici e di diametro variabile in funzione della specie animale: per quello di vacca si parla di circa 3-4 μm , mentre per quello di capra 1-2 μm . Inoltre, sono composti a strati concentrici, in cui i lipidi si dispongono in base al loro punto di fusione ed alla loro polarità così che all’esterno si trovano i trigliceridi più altofondenti ed all’interno quelli più bassofondenti. Il tutto è racchiuso all’interno di una membrana composta da fosfolipidi e lipoproteine, con anche colesterolo ed alcune lipoproteine, che permette al globulo di rimanere in emulsione nella matrice acquosa.

La loro funzione primaria è quella di fornire energia; inoltre, sono di notevole valore a livello nutrizionale in quanto, essendo presenti nel latte in emulsione ed essendo costituiti principalmente da acidi grassi a corta catena, sono facilmente idrolizzabili ed

assimilabili dall'organismo. Possono però facilmente subire diverse modificazioni ed alterazioni indesiderate, come l'irrancidimento lipolitico e l'irrancidimento ossidativo, ma anche subire modificazioni desiderate e favorevoli al miglioramento della componente aromatica.

Anche se mediamente il contenuto percentuale di lipidi del latte di capra è di poco inferiore rispetto al latte bovino, esistono differenze significative nella struttura e nella composizione dei lipidi tra i due tipi di latte. La frazione lipidica nel latte caprino subisce molte più variazioni in funzione del ciclo di lattazione, ma presenta una quantità nettamente superiore al latte bovino di acidi grassi a corta catena, come l'acido caproico (C6:0), l'acido caprilico (C8:0) e l'acido caprico (C10:0), i quali sono, dal punto di vista nutrizionale, più facilmente digeribili e metabolizzabili, ma apportano il tipico odore e sapore pungente al latte ed ai prodotti derivati e sono molto sensibili alla lipolisi. Inoltre, i globuli di grasso del latte caprino si caratterizzano per la loro dimensione. Il loro diametro è quasi la metà di quelli del latte bovino e ciò li rende, dal punto di vista nutrizionale, più digeribili, ma difficili da imprigionare nella maglia del coagulo e difficili da separare (complice anche lo scarso contenuto di agglutinine) dal resto della matrice. Tuttavia, le piccole dimensioni del globulo di grasso consentono di ottenere una migliore dispersione nel coagulo e quindi, successivamente, una mistura più omogenea nella pasta del formaggio. L'ultima differenza da evidenziare rispetto al latte vaccino è l'assenza di caroteni. Di fatti la vitamina A è contenuta come tale nel latte caprino e non sotto forma di molecole precursori, determinando così il colore particolarmente bianco del latte e dei derivati caprini (Salvadori Del Prato, 2004).

Tabella 2: *Composizione relativa (espressa come valori percentuali) dei principali acidi grassi in latte di diverse specie.*

Acido grasso	Vacca	Capra	Pecora
C4	3,0-4,0	0,7-2,6	3,0-6,1
C6	2,0-5,0	2,4-2,9	1,9-5,0
C8	1,0-1,5	2,7-3,2	1,15-5,2
C10	2,0-3,0	8,4-9,9	3,3-10,0
C12	3,0-4,0	3,3-4,9	2,0-8,0
C14	9,5-11	10,3-10,8	5,3-14,4
C15	1,5	--	0,6-1,6
C16	25,0-30,0	24,6-28,0	17,0-30,5
C16:1	2,0-2,3	2,2	0,98-3,4

C17	--	--	0,2-1,35
C18	12,0-14,6	6,8-13,0	5,6-16,4
C18:1	23,0-29,8	20,7-28,5	13,7-36,0
C18:1 trans	2,0-3,0	--	--
C18:2	2,0-2,4	2,2-4,0	1,03-4,25
C18:3	0,5-0,8	1,8	0,5-4,19
C20:4	0,2	--	--

(Mucchetti e Neviani, 2006)

c. SOSTANZE AZOTATE

Le sostanze azotate presenti nel latte sono rappresentate per il 95% da proteine e per il restante 5% da sostanze azotate non proteiche. Le proteine a loro volta includono le caseine e le sieroproteine, mentre tra le sostanze azotate non proteiche si trovano molecole a basso peso molecolare, come urea, nucleotidi e loro precursori, amminoacidi liberi e peptoni. Le frazioni azotate si distribuiscono in maniera diversa tra le varie specie ruminanti: prendendo in esame le tre specie più utilizzate per il loro latte si può notare che il latte di capra possiede molto più azoto non proteico, circa 8-9% dell'azoto totale, e meno caseine rispetto agli altri due tipi di latte (tabella 3).

Tabella 3: *Distribuzione media percentuale delle frazioni azotate in vari tipi di latte*

Frazione azotata	Vacca	Capra	Pecora
Caseine	77,8	75,6	78,5
Sieroproteine	17,0	15,7	16,5
Azoto non proteico	5,2	8,7	4,7

(Salvadori Del Prato, 2004)

La frazione proteica si trova in fase colloidale ed è rappresentata maggiormente dalle caseine, aggregati eteroproteici fosforati che si trovano in dispersione colloidale allo stato micellare, ovvero come insieme di submicelle. La dimensione delle micelle caseiniche può variare da 30 a 300 nm e la loro aggregazione è favorita e stabilizzata dalla presenza di ioni calcio, di gruppi fosfato e citrato. La classe delle caseine è quindi composta da tre tipologie principali:

- α -caseina: fosfoproteina acida con struttura ad elica. Rappresenta il 45% delle caseine ed è sempre insolubile in presenza di calcio.

- β -caseina: rappresenta il 30% delle caseine e contiene prolina, amminoacido che la rende molto idrofoba. È insolubile in presenza di calcio per temperature superiori a 10°C.
- κ -caseina: rappresenta solo il 15% delle caseine, ma è la frazione che protegge le micelle caseiniche e permette la loro dispersione in soluzione. In particolare, è formata da due porzioni, la para- κ -caseina, che è la parte insolubile ed idrofoba, e il glicomacropetide, la parte solubile che contiene zuccheri ed amminoacidi idrofili e che rende possibile il suo utilizzo come colloide protettore dell'intera micella caseinica. Queste due parti sono però unite da un legame debole tra fenilalanina e metionina (legame 105-106) che ha un ruolo chiave nella lavorazione secondaria del latte perché è su questo legame che agisce il caglio. Complessivamente quindi è molto idrofila e sempre solubile in presenza di calcio.

Ognuna di queste tipologie poi può presentare delle varianti genetiche, ovvero piccole differenze nella sequenza di amminoacidi che ne differenziano leggermente le proprietà. In generale, a causa della loro struttura, le caseine precipitano quando il latte viene acidificato a pH 4,6-4,7 a 20°C (coagulazione lattica) o per trattamento enzimatico con caglio o chimosina (coagulazione presamica) o per centrifugazione ad alta velocità. Questi trattamenti sono alla base dei processi di trasformazione casearia.

Mediamente, come riportato in tabella 3, il latte di capra ha un minor contenuto di caseina, la principale proteina coinvolta nella formazione del coagulo di formaggio, rispetto al latte vaccino, ma ciò non preclude il suo utilizzo per la caseificazione. Infatti, la κ -caseina caprina, come l'omologa bovina, possiede la fenilalanina in posizione 105 e la metionina in posizione 106, quindi il legame è idrolizzabile dalla chimosina (enzima del caglio), il che rende possibile la caseificazione a partire da questo tipo di latte. All'interno delle caseine poi, è possibile notare come la netta maggioranza, rispetto al totale, sia rappresentata dalla β -caseina, seguita dalla κ -caseina, mentre la caseina di tipo α_1 , che influenza le proprietà di coagulazione del latte, è la parte minore (tabella 4). Il maggiore contenuto in κ -caseina determina nel complesso una formazione del coagulo più veloce, ma anche un minor indice di solvatazione e quindi una minore stabilità della micella caseinica nel mezzo acquoso. Nel complesso questa composizione in caseine è molto differente rispetto al latte vaccino e ciò rende il latte caprino povero della componente principale per la trasformazione. Inoltre, le molecole e le micelle delle caseine sospese nel latte caprino possiedono un minore tasso di sedimentazione, una

maggior solubilizzazione della β -caseina, una minore dimensione delle micelle, un maggior contenuto in fosforo e calcio, una minore solvatazione ed una capacità di termo-stabilità maggiore rispetto a quelle presenti nel latte bovino.

Tabella 4: *Distribuzione percentuale della frazione caseinica nel latte vaccino e caprino.*

Caseine	Vacca	Capra
α_{S1}	38	5
α_{S2}	12	19
β	35	55
κ	11	20
γ	4	<1

(Salvadori Del Prado, 2004)

Le sieroproteine rappresentano il 17% delle sostanze azotate nel latte e hanno peso molecolare molto inferiore rispetto a quello delle caseine, motivo per cui restano in soluzione e non precipitano, anche se il loro punto isoelettrico è molto simile al pH del latte. Questa caratteristica le rende anche più facilmente digeribili ed a più alto valore biologico. Le sieroproteine sono presenti nel latte come monomeri o polimeri slegati e hanno una struttura compatta che si può denaturare solo attraverso l'utilizzo del calore, causando una modificazione irreversibile dovuta alla rottura dei legami della struttura secondaria e terziaria. Quindi queste proteine precipitano solo per riscaldamento intenso o salatura, ma non per azione enzimatica come le caseine. Possono essere divise in:

- Albumine: comprendono la α -lattoalbumina e la β -lattoglobulina, proteine di sintesi.
- Globuline: dette anche immunoglobuline, sono proteine di filtrazione, cioè provenienti direttamente dal sangue del mammifero; hanno funzione di anticorpi e vengono concentrate soprattutto nelle prime secrezioni di latte, il colostro.

Nel latte di capra, il contenuto in sieroproteine è lievemente superiore rispetto a quello del latte vaccino, così come si può vedere nella tabella 5, in particolar modo per quanto riguarda la globulina (Salvadori Del Prato, 2004).

Tabella 5: *Quantità (g/l) e composizione percentuale delle differenti frazioni sieroproteiche in latte di diverse specie.*

Frazione azotata	Vacca	Capra	Pecora
Contenuto (g/l)	6,6	7,0	9,7
α-lattalbumina	18,2	25,7	25,1
Sieroalbumina	6,1	15,7	25,1
β-lattoglobulina	48,5	48,6	51,4
Immunoglobulina	12,1	--	17,9
Proteoso-peptoni	15,1	--	5,6

(Mucchetti e Neviani, 2006).

d. VITAMINE E SALI MINERALI

Nel latte appena munto sono presenti pressoché tutte le vitamine oggi conosciute che si suddividono, in funzione della solubilità, in liposolubili (provitamina A, vitamine A, D, E, K) ed idrosolubili (vitamine del gruppo B, PP, C, H, acido pantotenico, acido folico). La presenza/assenza delle vitamine liposolubili, così come il loro quantitativo presente nel latte, dipendono da fattori esterni all'animale, primo fra tutti l'alimentazione, mentre le vitamine idrosolubili vengono prodotte dalla microflora presente nel ruminale degli animali e quindi si possono considerare dipendenti da fattori fisiologici.

Un'ulteriore distinzione, tecnologicamente utile, viene fatta in funzione della resistenza al calore in vitamine termolabili (vitamine D, C, K, acido pantotenico) e vitamine termostabili (vitamine A, E, F, gruppo B, PP, H).

Nel latte caprino, rispetto al latte vaccino, sono presenti in maggior quantità la vitamina B12 e la vitamina E, mentre il contenuto di vitamina B6 ed acido folico è minore. Inoltre, nel latte caprino la vitamina A si trova già in forma vitaminica, non come precursore (carotenoidi) e ciò determina il colore particolarmente bianco del latte.

Il latte contiene solo l'1% circa di sali minerali, tra i quali prevalgono potassio, calcio, fosforo ed acido citrico. Calcio e fosforo si possono trovare in due forme fondamentali: in soluzione vera e propria, od in dispersione colloidale, cioè legata agli elementi strutturali che si trovano in forma dispersa o colloidale (grassi e proteine). Le due forme sono in equilibrio mobile, ciò significa che al diminuire dei sali solubili una parte di sali colloidali tende a passare in soluzione e viceversa.

Altri minerali sono presenti in tracce e vengono definiti “microelementi” o “oligoelementi”, tra questi figurano alluminio, zinco, silicio, arsenico, cobalto, rame, ferro, manganese, molibdeno, boro, bromo e iodio, di cui molti sono associati alle molecole vitaminiche, mentre la presenza di alcuni, come ferro e rame, può dipendere dai materiali con cui il latte è venuto in contatto.

Le concentrazioni dei componenti minori nel latte di capra dipendono molto dalla razza, dalla dieta e dallo stadio di lattazione. In generale risulta più povero del latte vaccino in sali di calcio solubili, ma è più ricco di fosfati, il che rende il rapporto calcio solubile/calcio colloidale sfavorevole alla caseificazione. È però più ricco di sostanze minerali come potassio, magnesio e cloro, mentre è più scarso di sodio (Salvadori Del Prato, 2004).

1.3 INDICI CHIMICO-FISICI

Gli indici chimico-fisici corrispondono a dei parametri analitici che consentono di rilevare rapidamente le caratteristiche qualitative del latte, allo scopo di valutare se il latte ha subito sofisticazioni od alterazioni successive alla mungitura, oppure se è idoneo al consumo diretto od alla trasformazione industriale. I principali indici chimico-fisici che si analizzano (tabella 6) sono:

- Densità
- Indice crioscopico
- pH
- Acidità di titolazione

Tabella 6: Valori medi dei principali indici chimico-fisici nel latte caprino e bovino.

Tipo di latte	pH	Densità (a 15°C)	Acidità titol. (°SH/50)	Indice crioscopico (- °C)
Vacca	6,5-6,7	1,029-1,032	3,3-3,5	0,52-0,55
Capra	6,5-6,7	1,026-1,042	3,1-3,4	0,52-0,54

(Salvadori Del Prato, 2004)

a. DENSITÀ

Nel latte la densità è influenzata da variazioni di volume derivanti da variazioni di temperatura: si parla di gravità specifica determinata dal rapporto tra la densità del latte e la densità dell'acqua. Essa è rappresentata da un numero puro ed è indipendente dalla temperatura che determina variazioni sia al numeratore che al denominatore.

La misura della densità del latte può essere effettuata con il termo-lattodensimetro. La densità del latte è influenzata dalla densità del plasma latteo, composto da acqua e residuo secco magro, e dalla densità del grasso. La densità del latte, quindi, varia proporzionalmente alla concentrazione del plasma latteo e diminuisce all'aumentare del contenuto in grasso. La densità del latte intero varia perciò da 1,029 a 1,032 g/l a 20°C.

Nel latte caprino la densità media presenta ampie oscillazioni (1,026-1,042 g/l) dovute alla variabilità di composizione (Salvadori Del Prato, 2004).

b. PUNTO DI CONGELAMENTO O INDICE CRIOSCOPICO

L'indice crioscopico è un parametro fisico che consente di riconoscere un eventuale annacquamento del latte, anche di minime proporzioni. È un indice piuttosto costante, in quanto le componenti del latte che possono determinare una diminuzione di questo parametro sono il lattosio ed i sali minerali, sostanze che subiscono la minor variabilità percentuale nel corso della lattazione. Il punto di congelamento del latte vaccino oscilla tra -0,520°C e -0,550°C, mentre quello del latte caprino è pari a circa -0,580°C e risulta più elevato rispetto al latte vaccino in quanto è un latte caratterizzato da un maggiore tenore salino (Salvadori Del Prato, 2004).

c. pH

Il valore di pH di un latte normale varia da 6,5 a 6,7 secondo il periodo di lattazione e la tipologia di alimentazione. In presenza di pH inferiore a 6,5 si tratta di un latte acidificato oppure colostrale, mentre un pH maggiore di 6,7 individua un latte mastitico (pH 6,9 – 7,0) oppure un latte a fine lattazione. Tale parametro è importante in quanto da esso dipendono importanti proprietà come la stabilità della caseina. La misura del

pH, di per sé, non consente di individuare quale anomalia ha provocato la variazione dagli indici normali del latte e risulta quindi maggiormente utile affiancare la misura del pH alla misura dell'acidità di titolazione. Il pH del latte caprino, come quello bovino, è pari a 6,6-6,7 (Salvadori Del Prato, 2004).

d. ACIDITÀ DI TITOLAZIONE

L'acidità di titolazione è una misura indiretta del contenuto in caseina e fosfati del latte fresco: l'acidità del siero è infatti minore rispetto a quella del latte, pur presentando un pH simile, perché nel siero non è presente la componente caseinica. L'acidità di titolazione in genere si misura in gradi Soxhlet-Henkel ($^{\circ}\text{SH}$), che corrispondono ai millilitri di idrossido di sodio (0,25 N) necessari per neutralizzare fino al viraggio della fenolftaleina 50 o 100 millilitri di latte. Si considera normale un latte con acidità pari a 3-4 $^{\circ}\text{SH}$ /50 ml o 6-8 $^{\circ}\text{SH}$ /100 ml (Salvadori Del Prato, 2004).

1.4 ASPETTI NUTRIZIONALI

Il latte è tra gli alimenti più complessi pur rimanendo, per il suo stato fisico, tra i più digeribili. Insieme ai suoi derivati gioca un ruolo predominante nell'alimentazione umana: per l'uomo infatti, il latte ed i latticini sono alimenti di grande valore nutrizionale, capaci di fornire più sostanze nutritive essenziali di ogni altro alimento naturale. Il latte di capra apporta circa 710 kcal per litro; un po' di più rispetto al latte vaccino, e questa ricchezza nutritiva deriva soprattutto dalle componenti minori quali vitamine e sali minerali; inoltre, è povero di lattosio e possiede un rapporto caseine/sieroproteine molto simile al latte umano. Per questi motivi, il latte caprino risulta essere più digeribile del latte vaccino ed adatto anche agli individui intolleranti, sensibili ed agli infanti (Salvadori Del Prato, 2004). I derivati del latte caprino possono rappresentare quindi un valido supporto della dieta moderna, non solo per il loro gusto, ma anche per:

- mancanza, o ridotta, capacità allergenica per i soggetti allergici al latte vaccino e/o al lattosio
- elevato contenuto in calcio e sali minerali
- ottimo contenuto di fermenti lattici

CAPITOLO 2

*ASPETTI TECNOLOGICI DELLA LAVORAZIONE DEL
LATTE DI CAPRA*

2.1 TRATTAMENTI DEL LATTE

Tra i trattamenti che vengono più comunemente svolti sul latte crudo vi sono il raffreddamento, il riscaldamento per termizzazione o pastorizzazione, la sterilizzazione, la scrematura e l'omogeneizzazione.

Il raffreddamento rapido del latte è fondamentale per preservarne la qualità; è un trattamento che, nel minor tempo possibile, deve abbassare la temperatura a cui si trova il latte (circa 35-36°C) fino a 2-4°C circa per minimizzare la proliferazione dei microrganismi degradativi e, qualora presenti, patogeni. Questa pratica ha solo la funzione di inibire la crescita batterica e le trasformazioni enzimatiche in grado di alterare il prodotto, mentre non ha alcun effetto di riduzione della carica microbica.

I trattamenti termici ad alta temperatura che possono essere svolti sono:

- Termizzazione: processo di riscaldamento, svolto prima della coagulazione, nel quale il latte deve sostare per alcuni minuti ad una temperatura minima di 57°C, oppure a una temperatura di 68°C per non più di 15 secondi. Il trattamento ha lo scopo di ridurre la carica microbica complessiva mantenendo il più possibile intatte le caratteristiche casearie del latte, ma non permette di ottenere il livello di risanamento necessario per ottemperare agli standard igienici definiti dalla legge.
- Pastorizzazione: processo che consiste nel riscaldamento del latte ad una temperatura abbastanza elevata, tale da non alterare in modo fondamentale le caratteristiche chimico-fisiche della matrice, per un tempo sufficientemente lungo da distruggere tutti i microrganismi patogeni non sporigeni. Si distingue quindi la bassa pastorizzazione, dove il latte viene mantenuto a 63°C per 30 minuti (si svolge in caldaia), e l'alta pastorizzazione, che avviene in scambiatori di calore a piastre perché il latte deve sostare solo per 15 secondi a temperature superiori a 72°C.
- Sterilizzazione: trattamento effettuato per eliminare anche le forme sporigene dei microrganismi. Il latte deve sostare per 5 secondi a temperatura di almeno 140°C; per il latte la tecnologia più utilizzata è quella UHT, che utilizza vapore insufflato direttamente nel liquido per raggiungere la temperatura stabilita uniformemente in tutta la massa e ridurre il tempo di sosta al minimo (4-5 secondi), allo scopo di ridurre l'innesco di eventuali reazioni indesiderate e la

perdita a livello nutrizionale e organolettico. Il latte deve essere poi passato in camera di decompressione sotto vuoto parziale per favorire l'evaporazione dell'acqua, ed infine viene portato a temperatura di refrigerazione e poi confezionato. Questo trattamento viene svolto solo nei prodotti a lunga conservazione e quasi esclusivamente su latte bovino.

Anche per il latte caprino si deve eseguire almeno uno dei trattamenti termici, per la sanificazione della materia prima.

La scrematura è un trattamento comunemente usato nella caseificazione di latte vaccino per correggere e standardizzare il titolo di grasso. In genere il processo viene svolto tramite affioramento: si posiziona il latte crudo in recipienti bassi e larghi e si lascia riposare per diverse ore in ambiente fresco (circa 10°C) per favorire l'affioramento naturale delle micelle di grasso verso lo strato superficiale; infine, si separa la panna emersa, scremando il latte. Il grasso contenuto nel latte di capra però, così come in quello di pecora, non affiora o affiora pochissimo ed in tempi molto lunghi; per tale motivo questo metodo di scrematura risulta difficile se non addirittura dannoso, in quanto il latte si acidificherebbe troppo e non sarebbe più utilizzabile. Per correggere il titolo di grasso nel latte caprino si può ricorrere all'aggiunta di acqua, per un massimo del 10%, riducendo però la resa e la stabilità del coagulo, oppure all'aggiunta parziale di latte bovino scremato, che però modifica la natura stessa del prodotto finale.

L'omogeneizzazione è una tecnica attuata sul latte per unificare e standardizzare le dimensioni dei globuli di grasso. Principalmente ha lo scopo di prevenire o ritardare la naturale separazione delle componenti, sottoponendo il latte a forti e repentine cadute di pressione, durante le quali le particelle di grasso si frammentano in piccolissime goccioline ed aumentano la loro stabilità in emulsione con l'acqua.

2.2 EFFETTO DI TRATTAMENTI TERMICI APPLICATI AL LATTE CAPRINO

Il latte di capra può essere efficacemente pastorizzato senza che ci siano cambiamenti organolettici evidenti. L'efficacia di ogni trattamento può essere verificata determinando l'inattivazione degli enzimi o il grado di denaturazione delle sieroproteine del latte, con gli stessi metodi applicati per il latte bovino (Raynal-Ljutovac *et al.*, 2007).

La stabilità al calore risulta essere strettamente correlata al pH del latte, parametro molto variabile in base alla specie nel latte caprino. Uno studio europeo, svolto da Morgan *et al.* (2003), ha evidenziato come la stabilità al calore del latte di capra sia strettamente correlata al pH del latte stesso: in particolare è risultato più stabile il latte che presentava un pH medio di 6,59-6,75 e meno stabile il latte con un pH di 6,51-6,61. Lo studio ha anche evidenziato un legame tra la stabilità e la composizione chimico-fisica, ed in particolare la concentrazione di proteine. Da un punto di vista tecnologico si può considerare che il latte abbia una buona stabilità al calore con un massimo, in genere, attorno a pH 6,7. Questa proprietà è dovuta soprattutto al fatto che le micelle caseiniche sono termicamente stabili e, a valori normali di acidità, superano trattamenti termici a 140°C per 20 minuti senza che si verifichino fenomeni di coagulazione. Tuttavia, questo non significa che per effetto del calore non si abbiano comunque trasformazioni ed interazioni a carico di vari componenti che mutano, spesso significativamente, il loro stato ed i rapporti di alcuni degli equilibri chimico-fisici esistenti nel latte crudo. Per quanto riguarda le micelle caseiniche, la loro stabilità al calore aumenta con l'aumentare del tenore in κ -caseina e con la diminuzione del calcio colloidale: condizioni di migliore termostabilità quindi si riscontrano nelle micelle più piccole. La scarsa stabilità al calore delle proteine del siero dipende dalla presenza di residui di cisteina nella loro composizione, anche se spesso sono uniti in legami disolfuro intramolecolari. Per azione del calore si verificano cambiamenti nella struttura di queste proteine tali per cui si ha una rottura dei legami disolfuro intramolecolari, che quindi liberano i gruppi -SH che formeranno nuovi legami disolfuro intermolecolari. In questo modo si originano polimeri ed associazioni tra proteine diverse che, raggiunte certe dimensioni, precipitano (Corradini, 1995).

Il complesso indotto dal calore tra caseine e sieroproteine è uno dei parametri che influenzano la stabilità al calore. Quindi, da una qualsiasi modifica di questo rapporto molare si possano ottenere delle ripercussioni sulla stabilità al calore. Aumentando il rapporto caseine/sieroproteine con tecnologie fisiche quali microfiltrazione o ultrafiltrazione, Bouhallab *et al.* (2002) hanno mostrato che sia riducendo il contenuto in sieroproteine, che aumentando le caseine, la stabilità a calore del latte migliora.

Il processo termico ha un effetto minore sui lipidi: solo le membrane dei globuli che presentano composti proteici termosensibili subiscono alcune modifiche. Le proteine di membrana denaturate possiedono residui che possono legarsi tra loro, agglomerando diversi globuli di grasso tra loro e rendendo le loro dimensioni maggiori.

Generalmente, il latte di piccoli ruminanti ha una bassa stabilità colloidale e questo porta ad avere tempi di coagulazione ridotti ed una minore influenza del calore sulla capacità di coagulazione, ma anche a una scarsa stabilità a trattamenti ad alta temperatura rispetto al latte vaccino (Raynal-Ljutovac *et al.*, 2007).

2.3 PROCESSO DI PRODUZIONE DEI DERIVATI LATTIERO-CASEARI

La fase di coagulazione è un processo riguardante principalmente le proteine, ed in particolare le caseine. Si distinguono due tipi di coagulazione:

- **Acida:** i batteri lattici producono acido lattico che determina l'abbassamento del pH fino a 4.7 e la solubilizzazione del calcio; per questo motivo la proteina si demineralizza e precipita.
- **Presamica:** detta anche enzimatica, avviene a seguito della rottura del legame tra la parte solubile e quella insolubile delle k-caseine attraverso l'azione di enzimi, solitamente quelli del caglio. Avviene in tre fasi: la fase primaria avviene tra pH 5 e 7 ed a temperatura variabile tra 4 e 45°C. È indipendente dalla presenza di calcio, e consiste nella lisi del legame 105-106 della k-caseina, con conseguente separazione della parte idrofila zuccherina da quella idrofoba (macropeptide). La parte zuccherina rende l'intera micella caseinica solvatata, e perciò resta in soluzione, mentre l'altra parte tende a precipitare. La fase secondaria avviene a temperature superiori a 15°C e con una concentrazione di calcio superiore a 80 mg/L. La massa cambia viscosità e diventa gelatinosa, occupando lo stesso volume del latte iniziale. Le micelle caseiniche rotte si uniscono tra loro attraverso il calcio. La fase terziaria è rappresentata dalla presa di consistenza del gel: le micelle si legano tra loro stringendosi sempre di più nella fase di sineresi ed eliminano il siero e l'acqua dall'interno nella fase di spurgo. Maggiore è lo spurgo, maggiore sarà la perdita di peso. Si separa quindi il siero dalla cagliata, che ha composizione molto diversa dal latte di partenza. Tanto più la cagliata resta immersa nel siero, tanto più diminuirà di pH.

2.4 PROBLEMATICHE TECNOLOGICHE DELLA LAVORAZIONE DEL LATTE DI CAPRA

Il principale utilizzo del latte di capra è per produrre formaggi, ma ottenere prodotti derivati da latte di capra, specialmente con texture cremose, con caratteristiche comparabili a quelle degli stessi prodotti di origine bovina è molto difficile. Lipidi e proteine sono le componenti che più contribuiscono alla resa di caseificazione, influenzando anche le proprietà di coagulazione del latte (Stocco *et al.*, 2018), ma contribuisce in parte anche il contenuto in componenti minerali, che nel latte di capra risulta leggermente inferiore rispetto al latte vaccino. Le differenze tra il latte prodotto dalle diverse razze caprine non consistono solo nel contenuto in grasso ed in proteine, ma anche nelle percentuali di lattosio e di ceneri presenti rispetto al totale di sostanza secca. Anche all'interno della medesima razza si possono evidenziare differenze qualitative nel latte prodotto dai singoli animali: è riscontrato che in genere gli capi allevati in modo più rustico producono quantitativi di latte modesti, ma qualitativamente migliore (Salvadori Del Prato, 2004). Complessivamente si può affermare che le difficoltà di lavorazione tecnologica di questi tipo di latte, rispetto a quello bovino, dipendono da quattro fattori:

- polimorfismo genetico delle caseine e conseguente minore contenuto di tali proteine
- maggiore contenuto di azoto non proteico
- minore dimensione dei globuli di grasso
- minore contenuto di calcio totale e colloidale

Il latte caprino, dato lo scarso contenuto in caseina, tende a dare cagliate e formaggi teneri e poco consistenti, che mantengono forma e struttura solo se in forme di piccole dimensioni. Questo latte si presta bene a produzioni di formaggi a coagulazione prevalentemente lattica, lenta e con sgrondo del siero che avviene prevalentemente negli stampi; occorre inoltre ricordare che il coagulo caprino non possiede alcuna proprietà di filatura, e tale carenza rende impossibile utilizzare il latte di capra per produrre formaggi a pasta filata. Questo aspetto dunque impedisce di applicare a tale materia prima la stessa tecnologia che si usa per produrre derivati vaccini (Salvadori Del Prato, 2004), soprattutto a causa dello scarso contenuto di α 1-caseina, la frazione maggiore delle caseine, e della forte dipendenza della composizione del latte di capra dalla stagione (Ardelean *et al.*, 2012). Le caseine hanno un ruolo fondamentale non solo

durante il processo di gelatinizzazione della cagliata, ma anche dopo la coagulazione. Tutte le micelle caseiniche sono disperse liberamente nel siero e si possono aggregare in modo casuale, ma una volta che inizia il processo di formazione della matrice in gel le micelle si possono legare sia alla matrice stessa, che ad altre micelle libere; pertanto le proprietà finali della maglia in gel possono essere considerevolmente influenzate dalla quantità di caseina che si lega alla maglia nel tempo di coagulazione della cagliata. Un aumento del contenuto in proteine determina un incremento del tempo di azione del caglio laddove un aumento di caseine risulta responsabile di alti parametri di compattezza della cagliata (Stocco *et al.*, 2018). Inoltre, poiché il diametro medio delle micelle di caseina è inferiore a quello del latte vaccino, nel latte di capra il coagulo di caseina è più soffice e friabile. Questo lo rende più digeribile, ma meno idoneo a subire il processo di caseificazione. Il latte di capra tende infatti a produrre cagliate meno consistenti e più difficili da spurgare, impossibili da filare (Salvadori Del Prato, 2004). Oltre ad avere un minore tenore in caseine, il latte di capra presenta un livello maggiore di azoto non proteico rispetto a quello di vacca. Questo è una ulteriore causa della bassa resa in formaggio e delle ridotte texture e viscosità dei prodotti caprini fermentati. Di fatti, la debolezza di struttura del coagulo è dovuta alla fragile microstruttura che presenta il latte caprino fermentato, che è pertanto meno resistente, suscettibile alla rapida deformazione e che forma un gel acido meno compatto, morbido e debole. Complessivamente queste proprietà sono positivamente correlate al diametro medio inferiore della micella, al grado di idratazione, mineralizzazione e contenuto di caseina nel latte, in particolare $\alpha 1$ -caseina, e con il diametro più piccolo di azoto non proteico nel latte di capra rispetto a quello di vacca (Delgado *et al.*, 2017).

Per quanto riguarda le sostanze proteiche, il polimorfismo genetico dell' $\alpha 1$ -caseina nel latte di capra è uno dei motivi principali per cui si trova questa particolare suddivisione di tipologie di caseine in questo tipo di latte. Il gene che determina questa caseina è il più studiato nella biogenetica proprio per le sue caratteristiche di elevata variabilità. Fino ad oggi sono stati individuati almeno 17 alleli associati a diversi livelli di sintesi della caseina $\alpha 1$. Nello studio di Ramunno *et al.* (2007), un primo gruppo di alleli è stato associato ad un normale contenuto di $\alpha 1$ -caseina (circa 3,5 g/L per allele), mentre due alleli sono risultati associati ad un contenuto intermedio (circa 1,1 g/L per allele), mentre altri tre alleli sintetizzano per un basso livello di tale frazione proteica (circa 0,45 g/L). Esistono infine anche tre alleli, chiamati “nulli”, che sono responsabili dell'apparente assenza di questa forma di caseina nel latte. È stato evidenziato un

significativo effetto della variabilità genetica sia sul diametro delle micelle, che sul loro contenuto di calcio, che risultano più piccole e ricche di calcio quando il contenuto di α 1-caseina è normale. Inoltre, il latte di capra con un più elevato contenuto di caseina α 1 presenta una migliore composizione in termini di sostanza secca, proteine, fosforo ed un pH più basso rispetto al latte con un minor contenuto di tale frazione proteica. Effetti significativi sono stati osservati anche per i parametri di coagulazione e per la resa in formaggio, che è maggiore nel latte con più alto contenuto di α 1-caseina. Infine, è stata rilevata anche un'influenza sulle proprietà organolettiche: il formaggio ottenuto con latte ad alto contenuto di tale frazione proteica si caratterizza per un sapore ed un odore (ircino) meno intenso rispetto a quello ottenuto da capre con alleli a minore capacità di sintesi per questa caseina. Occorre però sempre ricordare che la massima fermezza del gel di latte di capra risulta comunque inferiore a quella di latte bovino, anche se il contenuto di caseina viene portato agli stessi livelli. Questo implica che sulle proprietà di cagliatura e texture influiscono anche altri parametri (Park *et al.*, 2007).

La minore dimensione dei globuli di grasso comporta conseguenze di tipo tecnologico: difficile separazione del grasso dal latte per affioramento, difficile inglobamento dei globuli nel reticolo caseinico che diventerà cagliata, ottenimento di rese minori, rapido e facile irrancidimento, con conseguente maturazione più veloce dei formaggi caprini. Un aumento del contenuto in grassi riduce il tempo di coagulazione e di rassodamento della cagliata (Salvadori Del Prato, 2004). In generale, latte ricco in grassi è stato associato a migliori proprietà di coagulazione, mentre latte ricco in proteine è associato a coagulazione rallentata ed a grandi quantità di caseina, con abilità a cagliare migliore solo quando la coagulazione è già iniziata (Stocco *et al.*, 2018).

Park *et al.* (2007) hanno osservato correlazioni significative tra i livelli di calcio colloidale e fosforo inorganico e la fermezza del gel o la sua velocità di impostazione, e tra il grado di idratazione delle micelle e la loro mineralizzazione. Complessivamente, le differenze di composizione portano a delle differenze sostanziali nel comportamento tecnologico del latte di capra rispetto a quello vaccino (Salvadori Del Prato, 2004):

- i coaguli di latte di capra sono generalmente meno consistenti
- il coagulo si forma più rapidamente, ma i tempi di rassodamento sono superiori e lo spurgo è rallentato
- il latte caprino richiede minor dosi di caglio, ma produce una cagliata meno consistente rispetto al latte vaccino

- il coagulo di latte caprino non è resistente ai trattamenti meccanici ed al riscaldamento, e per questo motivo non risulta adatto alla produzione di grossi formaggi e/o formaggi che richiedono alte temperature di cottura della cagliata
- lo sgrondo del siero per percolazione dalle cagliate di latte di capra è più rapido di quello delle cagliate di latte vaccino.

La minore consistenza della cagliata ha come conseguenze una minore resa casearia, in quanto risulta maggiore la perdita di sostanza secca con il siero, ed una minor resistenza ai trattamenti meccanici utili a far spurgare il siero. Come conseguenza, l'industria casearia di capre tradizionalmente utilizza proteine del latte e latte di altre specie (vaccino ed ovino) per migliorare le proprietà reologiche e strutturali dei prodotti fermentati (Stocco *et al.*, 2018).

2.5 STRATEGIE PER CONTRASTARE LE PROBLEMATICHE TECNOLOGICHE DEL LATTE DI CAPRA

La crescente espansione del mercato dei prodotti lattiero-caseari fermentati (non solo di origine caprina) che presentino buone caratteristiche a livello di consistenza e stabilità del prodotto, come richiesto dai consumatori, possono essere un problema per l'industria alimentare. Per raggiungere questi risultati, i produttori di alimenti spesso aggiungono alcuni ingredienti con funzione di addensanti o stabilizzanti, come gli alginati, carragenina, cellulosa e pectine. Tuttavia, c'è una domanda crescente per prodotti naturali e sani da parte dei consumatori. Inoltre, in alcuni paesi, la quantità e la tipologia di stabilizzanti utilizzabili sono strettamente regolamentate per quanto riguarda alcune produzioni, come quella di yogurt, per cui queste soluzioni non sono più soddisfacenti ed in linea con le tendenze di mercato (Zhu *et al.*, 2019).

Per questi motivi sono studiate altre alternative, che hanno lo scopo di migliorare la consistenza dei derivati del latte di capra utilizzando ingredienti funzionali e/o nuovi processi (bio)tecnologici. Per ovviare i problemi tecnologici correlati alla materia prima, Delgado *et al.* (2017) hanno individuato principalmente due vie:

- Aggiunta o concentrazione della sostanza secca
- Trattamenti biotecnologici basati sull'impiego di specifici microrganismi e/o enzimi.

CAPITOLO 3

*STRATEGIE PER MIGLIORARE LE CARATTERISTICHE
REOLOGICHE E STRUTTURALI DEI PRODOTTI
FERMENTATI*

3.1 PREMESSA

Il latte di capra è una fonte eccellente di proteine, acidi grassi e minerali, che fanno sì che possa essere utilizzato nell'alimentazione umana come sostituto del latte di vacca. Tuttavia, a causa delle sue problematiche tecnologiche, è difficile ottenere prodotti da latte di capra che abbiano sapore e consistenza appropriati ed ampiamente accettati dai consumatori rispetto ai prodotti da latte vaccino. Pertanto, negli ultimi anni, sono stati condotti molti studi e ricerche per trovare alternative valide per migliorare il sapore dei prodotti caseari di capra, eliminandone e/o riducendone il sapore sgradevole, e per rafforzarne la consistenza e reologia, ai fini di ottenere un prodotto più simile a ciò a cui i consumatori sono abituati. Questo latte presenta differenze essenziali, rispetto al latte vaccino, nella composizione e dimensione delle micelle di caseina e nella struttura dei globuli di grasso, come già evidenziato nel capitolo precedente. Queste peculiarità conferiscono ai prodotti a base di latte di capra una struttura e una reologia distinte: i prodotti caprini fermentati, soprattutto lo yogurt ed i formaggi a pasta morbida e spalmabile, incontrano alcuni limiti all'accettazione da parte dei consumatori non abituali non solo per la differenza di sapore, ma anche di texture. Le principali differenze per lo yogurt al latte di capra sono la minore consistenza e viscosità apparente e la maggiore tendenza alla sineresi rispetto allo yogurt di latte vaccino (Delgado *et al.*, 2017).

La texture e la reologia del prodotto finale sono direttamente correlate alla composizione e qualità del latte. Nella lavorazione dei prodotti fermentati, quindi, il contenuto totale di solidi può essere aumentato, per migliorare le caratteristiche dei prodotti derivati dal latte di capra. Per incrementare il contenuto di sostanza secca, si possono applicare principalmente due metodi (Duboc e Mollet, 2001):

1. aggiungere la materia prima di altre sostanze
2. concentrare il latte attraverso processi fisici.

3.2 AGGIUNTA DI SOSTANZA SECCA

Questo metodo si basa sull'aumento della concentrazione dei solidi solubili del latte, come lipidi, proteine o carboidrati, mediante l'aggiunta di sostanze ottenute da diverse fonti, non esclusivamente derivanti da latte (Duboc e Mollet, 2001).

3.2.1 SIEROPROTEINE

L'aggiunta al latte di ingredienti di natura proteica influenza l'attività proteolitica dei batteri responsabili della fermentazione per la produzione dello yogurt creando differenze nel contenuto totale e nelle frazioni proteiche del latte. Anche peptidi ed amminoacidi rilasciati a seguito dell'idrolisi delle proteine del latte possono causare cambiamenti nella struttura fisica dello yogurt. Inoltre, questi prodotti contribuiscono al gusto ed all'aroma tipici tramite reazioni chimiche che portano alla formazione dei composti aromatici nello yogurt (Gursel *et al.*, 2016).

Herrero e Requena (2006) hanno investigato l'effetto dell'aggiunta al latte di capra di 30 g / L di un concentrato di sieroproteine per la produzione di yogurt compatto, ed hanno constatato un esito positivo: il concentrato ha migliorato fermezza, durezza ed adesività, che si sono mantenute integre per tutto il periodo di conservazione di 28 giorni.

In un altro studio svolto in Turchia, Isleten e Karagul-Yuceer (2006) hanno prodotto yogurt senza grassi mediante l'incorporazione nel latte di sieroproteine, isolate ulteriormente tramite microfiltrazione, per fornire migliori proprietà fisiche e sensoriali. Questo prodotto è stato confrontato con altri yogurt ottenuti utilizzando caseinato di sodio ed un miglioratore di texture. È stato rilevato che le sieroproteine hanno migliorato le proprietà fisiche dello yogurt, rendendo più alta la viscosità e minore la sineresi in modo maggiore rispetto agli altri ingredienti considerati; per contro, hanno contribuito in modo molto lieve sulle proprietà sensoriali ed organolettiche del prodotto finale. Gli autori hanno quindi concluso che gli yogurt fortificati con caseinato di sodio ed il miglioratore di texture sono quelli che, nel complesso, sono risultati i preferiti dai consumatori coinvolti nel loro studio.

Nello studio condotto da Wang *et al.* (2017) sono stati valutati gli effetti dell'uso di sieroproteine polimerizzate in combinazione con pectine come addensante per la produzione di un latte di capra fermentato compatto. Le sieroproteine polimerizzate sono state ottenute applicando ad un isolato di sieroproteine un trattamento a 85°C per 30 minuti. L'agente addensante così ottenuto (sieroproteine polimerizzate) è stato quindi usato insieme a delle pectine per la produzione di latte fermentato che, in questa sperimentazione, è stato preparato a partire da latte di capra utilizzando una coltura starter commerciale prodotta dalla Danisco: "Kefir Mild 01". Si tratta di una coltura mista composta da *Lactococcus lactis* *subsp.* *lactis*, *Lactococcus lactis* *subsp.* *cremoris*, *Lactococcus lactis* *subsp.* *lactis* biovar *diacetylactis*, *Leuconostoc*

mesenteroides subsp. *mesenteroides*, *Streptococcus thermophiles* e *L. acidophilus*; tale coltura starter non contiene lieviti e presenta, secondo le indicazioni del produttore, un probiotico: *L. acidophilus*. I risultati ottenuti hanno evidenziato che l'aggiunta di sieroproteine polimerizzate ha avuto un effetto positivo sulla sineresi nel prodotto fermentato: infatti i valori di sineresi si sono ridotti significativamente quando l'aggiunta di sieroproteine è stata di almeno lo 0,3% (p/v). Le pectine, aggiunte in combinazione all'agente addensante (siero proteine polimerizzate), hanno influito sul valore di sineresi, abbassandolo ulteriormente rispetto all'aggiunta di sieroproteine singolarmente. Questo effetto è dovuto al fatto che le pectine interagiscono con le sieroproteine in ambiente acido (che si crea con la fermentazione) contribuendo in tal modo a rafforzare il gel. Il campione di latte di capra fermentato senza l'aggiunta di alcun addensante ha mostrato una texture molto scarsa in consistenza e stabilità. Sebbene l'aggiunta di sieroproteine polimerizzate non abbia avuto effetti migliorativi degni di nota, la combinazione sieroproteine polimerizzate/pectine è invece risultata la soluzione più efficace nel migliorare la texture del prodotto. Da un punto di vista sensoriale, il campione prodotto con la combinazione sieroproteine polimerizzate/pectine (FGM_{pp}) ha avuto la maggiore approvazione in termini di gusto e sapore (figura 4) avendo ricevuto punteggi molto simili al campione di latte fermentato prodotto da latte bovino (FCM). Questi sono risultati nettamente distanti dai punteggi ottenuti dagli altri campioni in cui sono state aggiunte pectine (FGM with pectin) o sieroproteine polimerizzate (FGM with PWP); va comunque considerato che le caratteristiche sensoriali di tali prodotti potrebbero essere dovute alla coltura starter utilizzata, che non contiene lieviti.

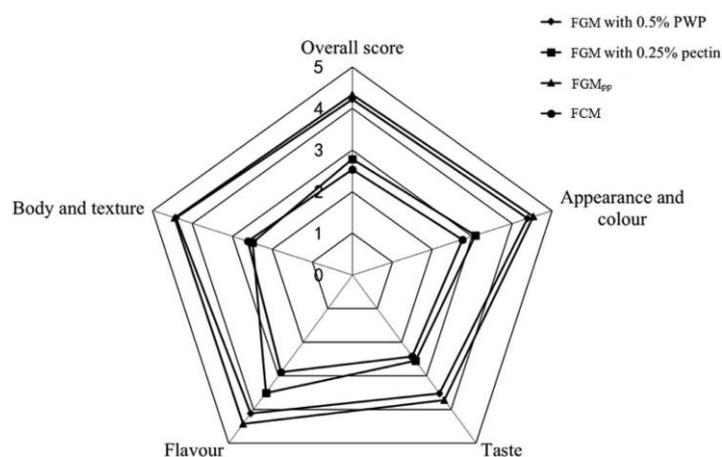


Figura 4: Valutazione sensoriale di lattici fermentati con diverse formulazioni - FGM: latte fermentato di capra; FGM with PWP: latte fermentato contenente sieroproteine polimerizzate; FGM with pectin: latte

fermentato contenente pectine; FGMpp: latte fermentato contenente pectine e sieroproteine polimerizzate; FCM: latte bovino fermentato (Wang *et al.*, 2017).

A livello microstrutturale (figura 5), il campione con l'aggiunta di pectine (c) mostra ampi spazi vuoti, indice di una struttura più debole e con maggior contenuto di acqua; al contrario, il campione in cui sono state aggiunte solamente le sieroproteine polimerizzate (d) possiede un gel più denso, probabilmente grazie al maggior contenuto di proteine nella struttura. Il campione ottenuto dalla combinazione dei due agenti addensanti (b) presenta una struttura più omogenea data da agglomerati di particelle microscopiche molto aggregati tra loro, comparabile alla struttura del campione prodotto da latte vaccino (a).

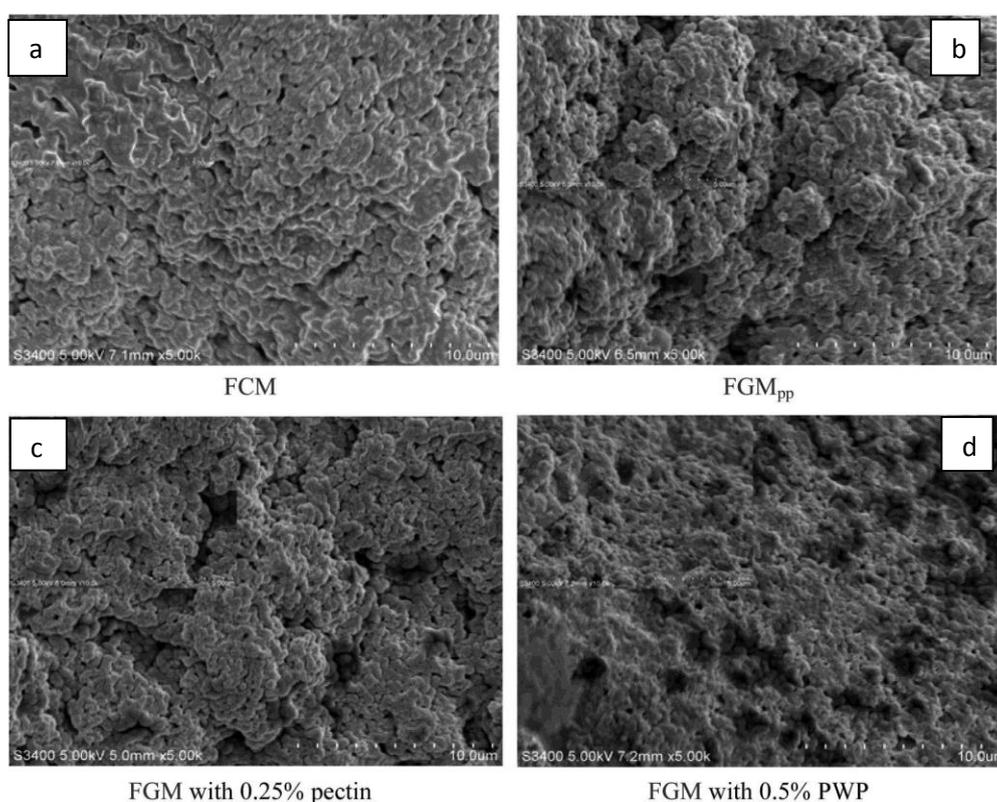


Figura 5: Immagini dal microscopio elettronico a scansione di campioni di latte fermentato di diversa formulazione - FCM: latte bovino fermentato; FGM: latte fermentato di capra; FGM with PWP: latte fermentato contenente sieroproteine polimerizzate; FGM with pectin: latte fermentato contenente pectine; FGMpp: latte fermentato contenente pectine e sieroproteine polimerizzate (Wang *et al.*, 2017).

Da questo studio si può quindi concludere che le sieroproteine polimerizzate possono essere utilizzate efficacemente come agente addensante nella formulazione di prodotti fermentati ottenuti da latte di capra, in quanto migliorano in modo significativo

viscosità e texture mentre riducono la sineresi. L'efficacia risulta ulteriormente migliorata se vengono aggiunte in combinazione a pectine.

Nel latte di capra, essendoci un contenuto inferiore di caseine, è altamente raccomandato l'arricchimento con sieroproteine per ottenere un gel ben strutturato che può essere meno suscettibile alla rottura e con una elevata capacità di trattenere la fase acquosa nella matrice (Gursel *et al.*, 2016).

3.2.2 LATTE SCREMATO IN POLVERE

L'aumento di solidi totali aggiungendo latte scremato in polvere è un'applicazione comune nella tecnologia di produzione dello yogurt, in quanto migliora le proprietà strutturali come la consistenza del gel e la sineresi (Gursel *et al.*, 2016).

Lo studio svolto da Miocinovic *et al.* (2016) aveva come obiettivo quello di confrontare le proprietà reologiche e strutturali di yogurt a base di latte di capra non fortificato e latte di capra fortificato con proteine isolate dal latte bovino (5% di proteine) rispetto a quelle di uno yogurt classico prodotto da latte di vacca (3% di proteine). È risultato che lo yogurt prodotto da latte di capra fortificato necessita di maggiore tempo per gelificare (il più rapido a gelificare è risultato lo yogurt di latte di capra) probabilmente a causa di un maggiore effetto tampone, dovuto all'elevato contenuto di proteine, e raggiunge un pH finale più alto rispetto agli altri due. Inoltre, lo yogurt di latte di capra ha una struttura più debole rispetto agli altri due campioni, anche se quella più forte in assoluto è risultata la struttura dello yogurt da latte bovino. La struttura dello yogurt caprino rinforzato è stata migliorata grazie all'aumento del numero e della forza dei legami che si sono formati all'interno del gel, che lo ha reso meno debole e fratturabile. La fortificazione con proteine isolate dal latte bovino ha migliorato significativamente le proprietà reologiche, di texture e sensoriali dello yogurt da latte caprino permettendo di ottenere un prodotto più vicino a quello il latte bovino; tuttavia, le proprietà strutturali sono risultate comunque significativamente inferiori rispetto ai campioni da latte bovino.

La qualità degli yogurt non grassi potrebbe essere migliorata integrando latte scremato in polvere con un contenuto di proteine fino al 5,6%, mentre oltre questo limite i prodotti sono risultati troppo sodi e con un sapore astringente.

In uno studio, svolto da Gursel *et al.* (2016), sono state confrontate tra loro caratteristiche chimico-fisiche di tre yogurt differenti, prodotti a partire da latte di capra mediante l'aggiunta di latte di capra scremato in polvere, sieroproteine concentrate o sieroproteine isolate. Per quantità di solidi totali, il campione prodotto con l'aggiunta di latte in polvere è risultato avere un contenuto leggermente superiore agli altri due campioni, come si può vedere nella tabella 7, mentre il pH di questi ultimi è risultato maggiore rispetto al primo campione.

Tabella 7: composizione percentuale dei latte di capra, utilizzato come ingrediente principale, e di prodotti derivati a base proteica utilizzati nella formulazione dei diversi campioni.

Componenti (%)	Latte di capra	Latte di capra scremato in polvere	Sieroproteine concentrate	Sieroproteine isolate
Solidi totali	12.13	96.02	≥ 94	≥ 94
Lipidi	3.90	0.50	≤ 10.0	≤ 0.2
Proteine totali	3.08	36.72	76–80	86–90
Ceneri	---	7.68	≤ 3.5	≤ 4.5

(Gursel *et al.*, 2016)

Il gel più consistente è stato formato nel campione con aggiunta di sieroproteine isolate, seguito dallo yogurt prodotto con sieroproteine concentrate e latte in polvere. È stato riscontrato che la fermezza del gel aumenta con l'aumentare del contenuto in sieroproteine, ma anche che le sieroproteine isolate (più concentrate) hanno prodotto una microstruttura più “aperta” con consistenza marcatamente grumosa dovuta probabilmente alla formazione di aggregati proteici tra sieroproteine e caseine estremamente grandi. Per questo motivo il gel risulta più forte. La sineresi (figura 6) è risultata maggiore nei prodotti con aggiunta di sieroproteine (concentrate ed isolate) rispetto allo yogurt con aggiunta di latte in polvere, indice che questa caratteristica è correlata ad un aumento della concentrazione in sieroproteine piuttosto che in caseine.

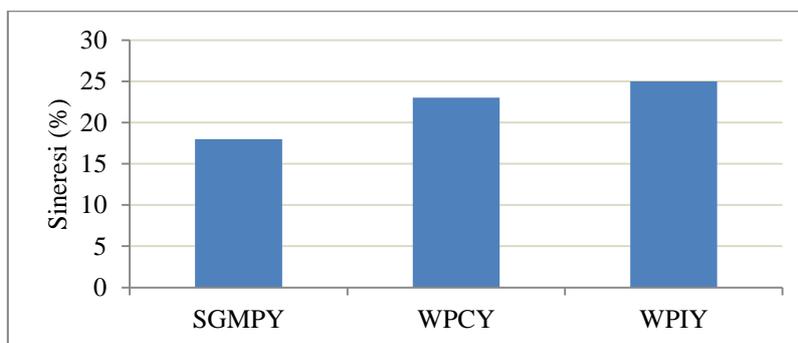


Figura 6: valori di sineresi presentata da ogni campione in percentuale (Gursel *et al.*, 2016)

Lo yogurt con l'isolato di sieroproteine non è stato apprezzato dai componenti del panel per l'analisi sensoriale come si può vedere dai risultati mostrati nella tabella 8, soprattutto a causa del colore e dell'aspetto complessivo; inoltre, la sua struttura più densa e compatta ha creato maggiore separazione del siero e non ha soddisfatto il panel. Il campione con il latte scremato in polvere è risultato più acido degli altri, con un retrogusto salato, e pertanto non ha avuto un grande apprezzamento. Il campione di yogurt con il concentrato di proteine invece è stato il prodotto che ha riscontrato il maggior gradimento per quanto riguarda odore e sapore, probabilmente a causa della sua leggera acidità ed aroma. Nel complesso, dall'analisi comparativa dei risultati del lavoro di Gursel *et al.* (2016) è emerso che l'aggiunta di sieroproteine, concentrate o isolate, ha portato ad un aumento della concentrazione di acetaldeide che influisce positivamente sull'aroma, ma l'uso di sieroproteine isolate non ha migliorato le caratteristiche strutturali del prodotto finale.

Tabella 8: punteggi medi ottenuti dall'analisi sensoriale di diversi campioni di yogurt

Campione	Proprietà sensoriali		
	Colore e apparenza	Texture e cremosità	Odore e sapore
Yogurt arricchito con latte di capra scremato in polvere	4.19	3.18	5.88
Yogurt arricchito con concentrato di sieroproteine	4.56	4.09	7.81
Yogurt arricchito con sieroproteine isolate	3.91	2.85	5.59

(Gursel *et al.*, 2016)

3.2.3 INGREDIENTI ALTERNATIVI NELLA FORMULAZIONE DI LATTI FERMENTATI

L'aggiunta di molti ingredienti, derivati del latte e non, può migliorare la reologia e la consistenza dei prodotti lattiero-caseari fermentati, ed in questo contesto le proteine derivate dal latte sono ampiamente richieste ed utilizzate; esistono tuttavia anche fonti alternative, come soia e frutta da cui si possono recuperare proteine utilizzabili nell'industria lattiero-casearia, così come possono essere utilizzati enzimi e polisaccaridi per aumentare il contenuto di solidi totali del latte da fermentato. Diversi

studi hanno evidenziato le loro potenzialità nel migliorare le caratteristiche di viscosità, resistenza del gel e capacità di trattenere il siero nei corrispondenti prodotti fermentati (Delgado *et al.*, 2017). L'aumento di solidi totali da sostanze solide-non grasse e proteine grezze ha quindi l'intento di promuovere una migliore capacità di ritenzione idrica delle proteine del latte, prevenire la sineresi e migliorare la coerenza visiva e gustativa del prodotto finale.

a. PROTEINE DI SOIA

I semi di soia contengono proteine di alta qualità capaci di formare gel in mezzi acidificati. Taufiq *et al.* (2013) hanno osservato che l'aggiunta di proteine di soia a latte di capra usato per produrre yogurt provoca un aumento della viscosità e della capacità di ritenzione idrica e diminuisce la sineresi. Questo fatto può essere spiegato in conseguenza della modificazione della consistenza del gel che si verifica a causa di un aumento della concentrazione di proteine. Lo stesso effetto è stato rilevato da Martin-Diana *et al.* (2004), che hanno aggiunto proteine di soia a macropeptidi di caseina e concentrato di sieroproteine. Questo risultato supporta la possibilità di usare proteine di soia come alternativa per il controllo della separazione del siero e per migliorare la consistenza dei prodotti caprini fermentati (Delgado *et al.*, 2017).

b. FRUTTA

L'aggiunta di frutta e dei suoi prodotti a latte destinato alla produzione di yogurt ha un ruolo importante all'interno della vasta gamma di prodotti lattiero-caseari. Commercialmente i frutti maggiormente utilizzati comprendono fragola, pesca, ciliegia, prugna, cocco, papaia e altri; tra questi, la fragola è stata la più usata per gli studi inerenti tale applicazione. Yogurt da latte di capra addizionato di polpa di frutta è stato valutato positivamente dai consumatori, anche in considerazione del fatto che il sapore tipico ed il gusto del latte di capra non aveva influenzato positivamente i consumatori all'acquisto di questo prodotto. La polpa di frutta può essere utilizzata per migliorare non solo il sapore dello yogurt, ma anche la scarsa consistenza del prodotto in virtù del contenuto in fibre apportato da tale ingrediente, come ad esempio la polpa di Cupuassu, frutto ricco di fibre originario del Brasile, che contiene un grande quantità di amido e pectina (Delgado *et al.*, 2017).

Un'altra alternativa è l'uso di frutta disidratata. Questa preparazione può essere una strategia promettente per aumentare il contenuto di solidi non grassi nel latte caprino. Uno studio condotto da Posecion *et al.* (2005) in cui è stata utilizzata ananas disidratata e cubetti di banana per aumentare la stabilità di yogurt di latte di capra, ha evidenziato un aumento della fermezza degli yoghurt. Tuttavia, i prodotti ottenuti con frutta disidratata sembravano all'apparenza meno viscosi rispetto ai prodotti analoghi ottenuti aggiungendo carragenina. Per questo motivo, ulteriori studi dovrebbero essere svolti per studiare la possibile combinazione di frutta disidratata e carragenina.

c. POLISACCARIDI

I polisaccaridi sono polimeri molto versatili che possono essere trovati in natura in diverse forme che svolgono funzioni diverse. Nell'industria alimentare, i polisaccaridi hanno un'importante applicazione, principalmente dovuta alla loro capacità di addensante e gelificante. Pertanto, sono stati utilizzati come addensanti, stabilizzanti, emulsionanti e gelificanti. L'applicazione dei polisaccaridi come addensanti è associata alla loro capacità di aumentare la viscosità di un liquido mediante la formazione di un gel, una caratteristica di consistenza desiderabile negli alimenti. Questa proprietà può pertanto essere molto interessante per migliorare la consistenza e la reologia dei prodotti di capra fermentati (Delgado *et al.*, 2017).

I galattomannani sono carboidrati di accumulo nelle piante, e sono principalmente usati come agenti ispessenti e stabilizzanti nell'industria. Questo polisaccaride ha un sapore neutro e non influisce sulla gradevolezza al palato del prodotto finale. Sono state pertanto studiate bevande di latte di capra con l'aggiunta di galattomannano parzialmente idrolizzato, ed è stato osservato che il polisaccaride può migliorare le caratteristiche sensoriali e di texture dei prodotti ottenuti aromatizzati con guava e guanàbana, frutti tropicali (Delgado *et al.*, 2017).

L'inulina è un polisaccaride che funge da substrato per i batteri probiotici presenti nell'intestino crasso. Questo prebiotico è ampiamente usato nell'industria alimentare per ottenere prodotti a basso contenuto di grassi poiché è un loro sostituto. Inoltre, l'inulina può formare complessi con gli aggregati proteici ed è necessario che sia parte della rete strutturale che si forma durante la fermentazione e strutturazione di prodotti fermentati. I risultati di uno studio hanno mostrato che l'inulina ha contribuito ad aumentare la

viscosità apparente e la consistenza; tuttavia, non ha avuto effetto su stabilità e coesione dello yogurt di latte di capra.

Le maltodestrine sono amidi idrolizzati prodotti da parziale idrolisi dell'amido da parte di acidi od enzimi. Nell'industria alimentare, sono state usate nella formulazione di prodotti a ridotto contenuto di grassi ed a ridotto apporto calorico. Questo polisaccaride può essere ottenuto da diverse matrici quali mais, patate, grano, tapioca e avena: in particolare quello estratto da avena è stato utilizzato per produrre yogurt di latte vaccino magro. In questo prodotto il suo impiego ha apportato maggiore durezza e viscosità. Un ulteriore risultato positivo è stato riscontrato aggiungendo maltodestrine nella formulazione di yogurt caprino magro aromatizzato al Cupuassum: anche in questo caso è stata riscontrato un miglioramento della viscosità apparente rispetto allo stesso prodotto scremato senza l'aggiunta di maltodestrine. In nessun caso stabilità e consistenza sono state però modificate (Delgado *et al.*, 2017).

Tabella 9: aspetti positivi e negativi dell'utilizzo di ingredienti alternativi nella produzione di prodotti caprini

Classificazione	Ingrediente	Effetti	
		Positivo	Negativo
Proteine di soia	Estratto solubile di semi di soia	Minore sineresi, maggiore viscosità e ritenzione di acqua	Nessuno
	Estratto solubile di semi di soia	Minore sineresi, maggiore ritenzione di acqua, influenza sulle proprietà reologiche (aumento della consistenza e diminuzione dell'indice di fluidità)	Nessuno
Frutta	Polpa di fragola	Miglioramento delle caratteristiche sensoriali	Nessuno
	Polpa di cupuassum	Elevata viscosità; la formulazione con probiotici e polpa di Cupuassum aumenta la durezza, la consistenza e la coesione di yogurt caprini	Nessuno
		Elevata viscosità; miglioramento degli attributi sensoriali (consistenza e viscosità) di yogurt caprino	Nessuna influenza, rilevabile strumentalmente, sulla texture

	Ananas disidratato e cubetti di banana	Gel più forte; miglioramento delle preferenze da parte del panel in termini di preferenza per il prodotto e consistenza	Nessuno
Galattomannani	Galattomannano parzialmente idrolizzato	Complessivamente più alti valori medi di parametri strumentali connessi alla texture (fermezza, consistenza, coesione) e viscosità	Nessuno
Inulina	5% (p/v)	Maggiore consistenza alla fine dello stoccaggio a confronto con altri trattamenti; aumento della viscosità	Nessuno
	5% (p/v)	Aumento della viscosità	Maggiore sineresi
Maltodestrina	Maltodestrina d'avena	Aumento della durezza, adesività e viscosità	Diminuzione del coefficiente di consistenza e della tensione di snervamento
	Non specificata	aumento della viscosità	Nessuno

(adattata da Delgado *et al.*, 2017)

3.2.4 CONCENTRAZIONE MEDIANTE PROCESSI FISICI

Alcuni recenti studi sono stati focalizzati sull'applicazione di tecnologie non termiche, come l'alta pressione idrostatica e gli ultrasuoni, a prodotti fermentati di latte sia bovino, che caprino. Tuttavia, l'uso di queste metodologie e filtrazioni di membrana sono meglio chiarite, in quanto maggiormente studiate, nei prodotti a base di latte bovino.

a. TRATTAMENTO AD ALTA PRESSIONE

Il trattamento ad alta pressione idrostatica è una tecnica innovativa applicata per la conservazione degli alimenti. Questo processo può migliorare la texture, così come inattivare i microrganismi patogeni dannosi e deterioranti.

Nel latte vaccino l'applicazione di alte pressioni idrostatiche influisce sulla coagulazione presamica ed aumenta la capacità di ritenzione idrica, l'indice di idratazione delle

proteine, la rigidità e la forza di rottura del gel (Delgado *et al.*, 2017). Il trattamento ad alta pressione idrostatica induce nel latte la distruzione e la riformazione di micelle di caseina in particelle più piccole ed aumenta la quantità di caseina dispersa nel siero. È stato riscontrato che l'omogeneità ottimale dei globuli di grasso nel latte di capra viene raggiunta dopo 9 minuti di trattamento a 200 MPa. Nonostante gli studi sull'applicazione di questa tecnica siano validi per il latte vaccino, la ricerca sull'applicazione nel latte caprino è quasi assente (Delgado *et al.*, 2017).

b. ULTRASUONI

Gli ultrasuoni sono considerati sostenibili e non tossici. Sono già applicati in diversi settori, compreso quello lattiero-caseario, con funzione emulsionante ed omogeneizzante. La sonicazione ad alta potenza (maggiore di 100 W) con bassa frequenza (20 e 45 kHz) migliorano la viscosità e le caratteristiche strutturali dei prodotti fermentati. L'applicazione di ultrasuoni aumenta anche il contenuto di calcio e fosforo solubile nel latte, essenziali per produrre un gel con proprietà adeguate; pertanto, la loro concentrazione è direttamente correlata alla reologia ed alle caratteristiche della texture di prodotti fermentati a base di latte (Delgado *et al.*, 2017).

Nonostante l'uso degli ultrasuoni abbia mostrato risultati positivi nell'applicazione su latte vaccino, questa metodologia non è stata applicata direttamente nel latte caprino.

c. MEMBRANE DI FILTRAZIONE

Le tecniche di separazione a membrana, come l'ultrafiltrazione e l'osmosi inversa, sono state usate nell'industria casearia per separare e concentrare le componenti del latte. Questo processo tecnologico viene anche impiegato per aumentare la sostanza secca del latte, che favorisce le proprietà reologiche e di consistenza dei prodotti derivati. L'efficienza di questa pratica dipende dal tipo di molecole che vengono separate; anche le caratteristiche della membrana usata influenzano la composizione e le caratteristiche funzionali del concentrato di latte (Delgado *et al.*, 2017).

Nella produzione di yogurt da latte di capra, l'applicazione dell'ultrafiltrazione ha aumentato viscosità, durezza e coesione del coagulo; questo risultato può essere causato dall'influenza dell'ultrafiltrazione sulla sostanza secca, così come dall'acidità del latte

di capra filtrato. Inoltre, un altro fattore molto importante è il grado di concentrazione: ad una concentrazione più alta i valori di durezza, adesività e forza di estrusione aumentano e la matrice proteica dello yogurt di capra risulta più compatta. Tuttavia, un'elevata concentrazione di sostanza secca nel latte può favorire una consistenza e struttura più simile a quella di formaggi cremosi. Inoltre, sono state ottenute anche maggiori concentrazioni di minerali (Ca, P, Mg e Zn) e proteine (caseine e proteine del siero di latte) (Delgado *et al.*, 2017).

L'ultrafiltrazione fornisce un migliore equilibrio di sali tra la fase acquosa e la fase dispersa nel latte con conseguente modificazione della distribuzione minerale, a favore di una migliore formazione della cagliata dopo la fermentazione. Inoltre, influenza la capacità di coagulazione del caglio e le proprietà fisiche della cagliata. Nel latte di capra, l'applicazione di ultrafiltrazione ha determinato risultati migliori rispetto all'applicazione dell'osmosi inversa: questa ultima infatti non ha consentito di ottenere un grado di fortificazione del latte ottimale, ed i corrispondenti yogurt da latte di capra hanno presentato tempi di coagulazione più lenti, mentre l'ultrafiltrazione ha apportato una migliore acidità ed aroma nel prodotto (Delgado *et al.*, 2017).

Remeuf *et al.* (1995) hanno applicato questa tecnologia al latte caprino. La concentrazione proteica del latte mediante la tecnica di ultrafiltrazione ha modificato alcune delle sue caratteristiche fisico-chimiche: principalmente è aumentata la concentrazione di proteine ed il contenuto di calcio colloidale. A causa dell'aumento del tenore di caseina, la propensione del latte a coagulare è stata sensibilmente modificata, così come la resistenza del gel, indice di una correlazione significativa tra la compattezza del gel ed il contenuto di caseina. Inoltre, quando il contenuto proteico dopo la concentrazione risulta più alto, la capacità della cagliata di espellere il siero tende ad essere più bassa, e per questo motivo il suo contenuto idrico resta abbastanza alto.

d. EVAPORAZIONE

Processo tipico delle piccole produzioni artigianali, consiste nel portare il latte a 85-90°C per 5-10 minuti al fine di evaporare solo la parte acquosa, concentrando in questo modo le componenti del latte. Stando a Tamime *et al.* (2011) il latte di capra utilizzato per la produzione di yogurt dovrebbe essere concentrato tramite evaporazione od ultrafiltrazione fino a un contenuto totale di solidi pari a 160–180 g/kg invece che essere

addizionato di latte caprino scremato in polvere, concentrato di sieroproteine o arricchirlo con latte bovino scremato in polvere con 40–100 g/kg di solidi.

Tabella 10: *Aspetti positivi e negativi dell'utilizzo di trattamenti tecnologici applicati nella produzione di prodotti caprini.*

Trattamento tecnologico	Condizioni di processo	Effetto	
		Positivo	Negativo
Alta pressione idrostatica	500 MPa; 25°C o 50°C; 10 minuti	Numero ridotto di polimeri di piccole dimensioni	Nessuno
	250 mL; 200 MPa; 3,6 e 9 minuti	Miglioramento della stabilità e della qualità dell'emulsione del latte di capra	Nessuno
	65°C/5 min+600MPa/75°C/15 minuti	Miglioramento dell'accettazione del prodotto di capra da parte del consumatore	Nessuno
Ultrasuoni (pretrattamento)	250 mL; 30 kHz; potenza nominale massima di 100 W; 60% di ampiezza; ciclo di lavoro completo; 3 e 6 minuti	Maggiore omogeneità dei globuli di grasso; migliore stabilità e qualità delle emulsioni di latte di capra	Nessuno
	800 W; 20 kHz; 0-20 minuti; disgregatore cellulare; diametro della sonda: 13 mm	Miglioramento delle proprietà di coagulazione del latte di capra; minore sineresi e tempo di gelificazione; maggiore rigidità del gel, resistenza del coagulo, modulo di conservazione finale, coesione, capacità di ritenzione idrica	Nessuno

Filtrazione di membrana	Ultrafiltrazione: grado di concentrazione di 1,5, 2,0 e 2,5 volte (v/v)	Maggiore durezza, adesività, forza di estrusione; sineresi inferiore	Maggiore consistenza del formaggio cremoso
	Ultrafiltrazione	Maggiore durezza, adesività e forza di estrusione; matrice proteica più compatta dello yogurt di latte di capra	Nessuno
	Ultrafiltrazione: rapporto di concentrazione del volume di 1,7	Aumento della concentrazione proteica, e degli ioni Ca, P, Mg e Zn; maggiore solubilità di Ca e Mg	Nessuno
	Ultrafiltrazione, osmosi inversa ed evaporazione sotto vuoto	Migliore sapore, viscosità, tensione della cagliata, maggiore livello proteico	Nessuno
	Ultrafiltrazione: grado di concentrazione 2 e 3 (v/v) utilizzando un modulo di tipo B. Osmosi inversa: grado di concentrazione di 2 e 3 volte (v/v); 40 bar (560 lb/in ²)	L'ultrafiltrazione ha determinato una migliore acidità ed aroma rispetto all'osmosi inversa; la concentrazione per osmosi inversa ha aumentato il contenuto in proteine, lattosio, vitamine e sali; l'ultrafiltrazione ha solamente concentrato le proteine	L'osmosi inversa ha causato una coagulazione ed un'acidità più lente ed un aroma sgradevole

(adattata da Delgado *et al.*, 2017)

CAPITOLO 4

*TRATTAMENTI BIOTECNOLOGICI PER MIGLIORARE
LE CARATTERISTICHE REOLOGICHE E
STRUTTURALI DEI PRODOTTI FERMENTATI*

L'uso di trattamenti biotecnologici è tra le strategie più studiate ed innovative per la produzione di derivati di latte di capra. Consistono nell'utilizzo di microrganismi e/o sostanze biologiche da essi prodotte per migliorare principalmente gli aspetti tecnologici che carenti in questo tipo di latte. Gli interventi più studiati si basano sull'utilizzo di:

1. Transglutaminasi microbiche
2. Batteri lattici produttori di esopolisaccaridi

4.1 TRANSGLUTAMINASI MICROBICHE

La transglutaminasi (EC 2.3.2.13) è un enzima che catalizza la formazione di legami covalenti intra- ed intermolecolari tra residui di glutammina e di lisina in molte proteine alimentari, comprese le caseine del latte. I nuovi legami formati dall'enzima modificano la capacità di idratazione, solubilità, ritenzione idrica o comportamento emulsionante, schiumosità, viscosità, elasticità e proprietà di gelificazione delle proteine, e di conseguenza influenzano le proprietà tecnologiche-funzionali e fisico-chimiche dei prodotti alimentari. La sua applicazione in campo alimentare, specialmente nell'ambito dei prodotti lattiero-caseari, è stata possibile grazie alla produzione economicamente conveniente di questo enzima da parte del microrganismo *Streptoverticillium spp.* ed alla sua capacità di svolgere la propria azione catalitica indipendentemente dalla concentrazione di ioni calcio nella matrice.

Generalmente, le proteine del latte di capra sono suscettibili all'azione di questo enzima, con conseguente formazione di legami incrociati con le caseine che determinano l'aumento della forza del gel e la diminuzione dei fenomeni di sineresi nei prodotti lattiero-caseari. Di conseguenza, questo enzima è stato utilizzato per produrre derivati caseari, principalmente yogurt, con migliorate proprietà reologiche e strutturali. Mentre state condotte ricerche approfondite per studiare gli effetti del trattamento con transglutaminasi sulle proprietà degli yogurt di latte vaccino, le ricerche nell'ambito di prodotti caprini sono ancora limitate.

Rodriguez-Nogales (2006) hanno riscontrato che l'azione di tale enzima migliora se viene applicato un trattamento di preriscaldamento, che si traduce in un aumento della compattezza od apparente viscosità dello yogurt di latte di capra più efficace

dell'aggiunta di latte di capra in polvere allo scopo di aumentarne il contenuto in sostanze solide.

L'enzima può essere aggiunto sia prima della fermentazione, che simultaneamente ad essa. Nei prodotti fermentati caprini, l'aggiunta precedente alla fase fermentazione ha permesso di raggiungere una maggiore viscosità apparente, così come si è ottenuta una maggiore adesività, durezza e bassa sineresi. È stato anche dimostrato che il pretrattamento con transglutaminasi accelera la formazione di gel. Nonostante il trattamento funzioni, i gel così ottenuti di latte di capra fermentato risultano tre volte più deboli rispetto ai gel di latte vaccino fermentato. Tuttavia, questo enzima potrebbe essere applicato con successo nella produzione di derivati di capra fermentati e acidificati (Delgado *et al.*, 2017).

Ardelean *et al.* (2012) hanno studiato l'effetto del trattamento con transglutaminasi, anche in combinazione con un arricchimento in sostanza secca, su gel di latte di capra indotti mediante l'aggiunta di acidi. Il latte è stato prima fortificato con latte bovino scremato in polvere per raggiungere il contenuto di solidi totali pari a 180 g/kg; dopodiché in un campione è stato aggiunto l'enzima ad una concentrazione di 1,8 U/g di proteine. Nel latte l'azione della transglutaminasi è stata arrestata mediante trattamento termico (85°C per 10 minuti) od aggiunta di N-etilmaleimmide. In entrambi i casi il latte è stato rapidamente raffreddato in acqua fredda; solo dopo l'arresto dell'attività enzimatica è stata indotta la gelificazione mediante l'aggiunta di D-glocono- δ -lattone.

I risultati hanno evidenziato come questo trattamento possa essere utilizzato per migliorare le caratteristiche di texture dei gel da latte di capra. Nei campioni trattati con l'enzima è stata riscontrata una minore sineresi, una maggiore polimerizzazione della componente proteica e di conseguenza anche una maggiore compattezza del gel rispetto al campione di controllo in cui il trattamento enzimatico non è stato effettuato.

Il trattamento con transglutaminasi ha influito sulla stabilità al calore del latte, modificato le proprietà del gel acido o della cagliata, le proprietà funzionali delle proteine del latte e migliorato le proprietà reologiche dello yogurt. La sperimentazione di Ardelean *et al.* (2012) si è limitata ai gel indotti da acidi, senza valutare l'azione di microrganismi fermentativi che è stato invece analizzato nello studio svolto da Domagała *et al.* (2013): tale lavoro è incentrato sulla valutazione dell'efficacia di tale trattamento enzimatico in yogurt di latte di capra. L'uso di questo enzima può rappresentare uno strumento tecnologico efficace per migliorare le proprietà funzionali

di yogurt di latte di capra, senza influire negativamente sulla sopravvivenza di eventuali microrganismi probiotici aggiunti al prodotto. Altri studi condotti da Rodriguez-Nogales (2006) e Ardelean *et al.* (2012) hanno evidenziato che il riscaldamento del latte prima dell'aggiunta dell'enzima ha migliorato la successiva formazione di legami incrociati nelle proteine e che la combinazione tra l'arricchimento in sostanza secca del latte caprino ed il trattamento con transglutaminasi permette la formazione di un gel con proprietà simili a quelle di un gel vaccino.

Il processo di reticolazione e gelificazione indotto dalla transglutaminasi dipende dalla concentrazione dell'enzima, dalla concentrazione di proteine, dal pH del latte, dal metodo e tasso di acidificazione e dalla temperatura. Lo studio di Domagała *et al.* (2013) è volto alla valutazione dell'influenza della concentrazione enzimatica e del tempo di conservazione sulle proprietà di texture, sineresi e sulla microstruttura dello yogurt preparato dal latte di capra trattato con transglutaminasi microbica. L'enzima è stato aggiunto al latte che è stato poi incubato a 5°C per 16 ore affinché potesse svolgere la propria attività.

Parametri di texture, come viscosità, fermezza, adesività e forza di estrusione di yogurt prodotti con latte sottoposto a trattamento enzimatico sono risultati molto migliorati, e tali caratteristiche sono state mantenute anche durante il periodo di conservazione, 14 giorni a 5°C. Il valore ottimale di enzima da aggiungere al latte è stato di 2 U/g di proteine. È stato inoltre riscontrato un forte aumento della forza del gel durante la prima settimana di conservazione dello yogurt prodotto da latte di capra addizionato sia di transglutaminasi, che di starter a base di fermenti lattici.

La sineresi, ovvero la separazione fisica tra gel e fase acquosa, non è desiderabile nello yogurt in quanto può influenzare negativamente l'accettazione di questo prodotto da parte del consumatore. Anche per questo parametro lo yogurt prodotto con il trattamento enzimatico è risultato positivo, quindi con un minore grado di sineresi, soprattutto nella prima fase di stoccaggio. Anche dal punto di vista sensoriale il prodotto finale è stato influenzato dal trattamento con transglutaminasi come emerso dai risultati del panel test condotto su campioni ottenuti da latte trattato con l'enzima in confronto al campione di controllo (senza trattamento con transglutaminasi). I punteggi assegnati dai membri del panel (tabella 11) sono risultati significativamente più elevati per il prodotto trattato fresco (subito dopo la sua produzione) rispetto al controllo per quanto riguarda accettabilità complessiva, sineresi e consistenza, mentre per il prodotto dopo la conservazione (5°C per 14 giorni) i risultati erano più simili a quelli del

campione di controllo. Nel complesso, il sapore dello yogurt trattato è stato meno accentuato e la consistenza caratterizzata da un aspetto bianco, secco, liscio e brillante.

Tabella 11: punteggi medi risultanti dal panel test di yogurt controllo e sperimentale, freschi e dopo conservazione.

Campione	Attributi sensoriali					
	Colore	Sapore	Odore	Consistenza	Sineresi	Accettabilità generale
Controllo (fresco)	5	3,96	3,85	3,25	3,33	3,78
Trattato con enzima (fresco)	4,95	3,78	3,61	4,65	4,78	4,23
Controllo (dopo conservazione)	4,94	3,57	3,72	2,89	2,50	3,39
Trattato con enzima (dopo conservazione)	5,00	3,30	3,37	4,14	3,96	3,77

(Domagała *et al.*, 2013)

La microscopia elettronica a scansione ha mostrato differenze nella microstruttura dello yogurt prodotto da latte di capra senza l'aggiunta enzimatica fresco (a) e conservato (b), e lo yogurt trattato con transglutaminasi immediatamente dopo la produzione (c) e dopo conservazione (d). Le differenze osservabili dalla figura 7 sono principalmente associate alla compattezza della matrice proteica ed alla dimensione degli spazi vuoti contenenti la parte acquosa del gel. La matrice proteica dello yogurt non trattato ha mantenuto le stesse dimensioni di micelle caseiniche anche dopo lo stoccaggio: queste risultano abbastanza grandi da creare porosità evidente al microscopio. Per lo yogurt trattato con transglutaminasi invece si può notare la ridotta dimensione delle particelle di caseina, le quali si sono compattate ulteriormente durante la conservazione, rendendo la trama meno porosa rispetto al controllo e quindi maggiormente in grado di trattenere la fase acquosa, evitando la sineresi.

Si può quindi concludere, in accordo con i risultati degli studi presi in esame, che il trattamento con transglutaminasi microbica al latte di capra ha migliorato sensibilmente gli attributi di viscosità apparente, consistenza del gel, adesività, sineresi e forza di estrusione nello yogurt. È inoltre chiaro che i risultati ottimali sono strettamente correlati alla concentrazione di enzima aggiunto ed al tempo di conservazione. Questo approccio appare quindi come uno strumento promettente per la produzione di yogurt di

latte di capra con proprietà soddisfacenti utilizzabile come alternativa alla fortificazione con sostanza secca del latte per ottenere prodotti lattiero-caseari.

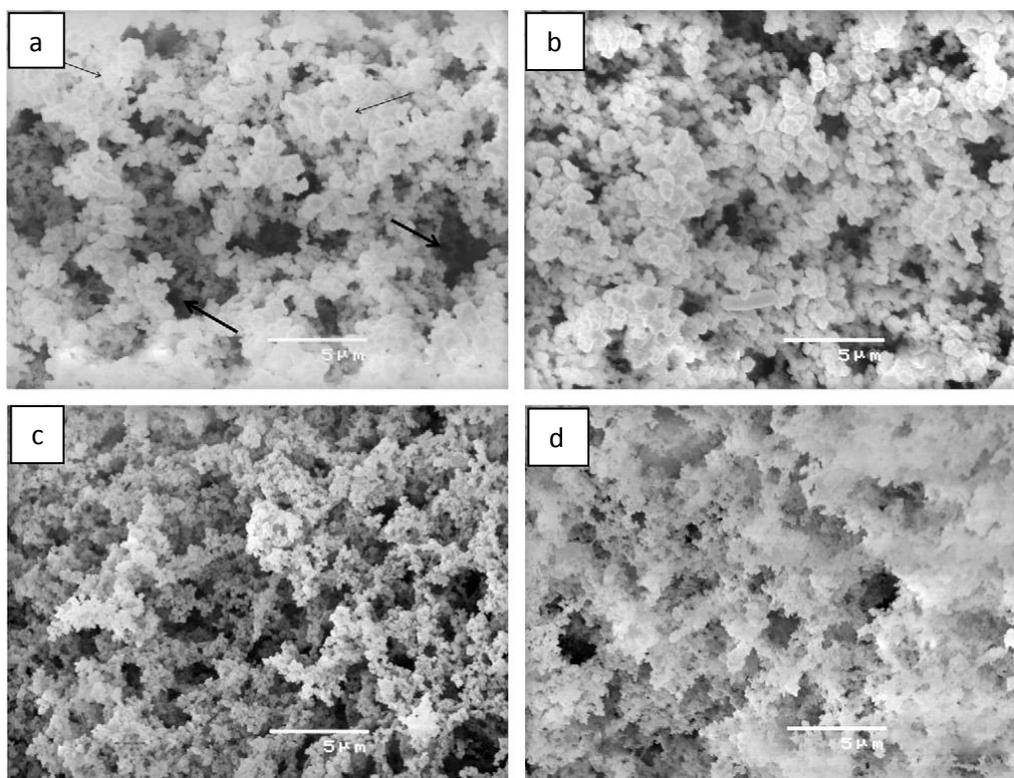


Figura 7: Immagini al microscopio elettronico a scansione elettronica che mostrano la microstruttura di diversi yogurt di latte di capra - yogurt di capra di controllo fresco (a) e dopo conservazione (b); yogurt di capra con trattamento enzimatico dopo la produzione (c) e dopo conservazione (d) (Domagała *et. al.*, 2013).

4.2 CARATTERIZZAZIONE TECNOLOGICA DI BATTERI LATTICI ISOLATI DA DERIVATI DI LATTE DI CAPRA

Da un punto di vista microbiologico, il latte di capra può presentare livelli di conta batterica relativamente elevati, soprattutto in quei paesi in cui l'applicazione di buone pratiche di lavorazione non è ancora recepita; conseguentemente, la qualità microbiologica del latte è bassa e questo può anche diventare un veicolo per determinati agenti patogeni, come ad esempio *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* e *Salmonella spp.*. Per aumentare la sicurezza igienico-sanitaria, il sapore e le funzionalità dei prodotti a base di latte di capra si possono sfruttare ceppi di batteri lattici autoctoni, isolati dal latte o dai formaggi caprini. Questi microrganismi possono essere opportunamente selezionati in base alle proprie attività metaboliche in modo da

individuare ceppi e specie in grado di produrre sostanze desiderabili che possano migliorare il sapore, la consistenza, il valore nutrizionale e la conservabilità del prodotto. I ceppi di batteri lattici autoctoni possono essere utilizzati come colture starter in sostituzione alle colture commerciali in quanto, rimanendo nel loro ambiente naturale, sono maggiormente favorite e possono diventare predominanti rispetto altri batteri. Inoltre, possono produrre diversi composti antimicrobici e possiedono un'adeguata attività metabolica che permette la produzione di sostanze coinvolte nella formazione del sapore e potenziali proprietà funzionali nella matrice alimentare (tabella 12).

I batteri lattici autoctoni si possono distinguere in base a tre proprietà:

- Protettiva
- Tecnologica
- Funzionale

Tabella 12: Esempi di batteri lattici autoctoni isolati da prodotti lattiero-caseari di capra e corrispondenti proprietà. N.B. Lb= *Lactobacillus*; Lc=*Lactococcus*; Ln=*Leuconostoc*

LAB autoctono	Origine	Ruolo	Metaboliti prodotti
<i>Lc. lactis subspp. lactis</i> (3LC39 e 1LC18)	Latte di capra	Protettivo	Acidi organici
<i>Lb. plantarum</i> (LbMS16 e LbMS21)	Latte di capra		—
<i>Lc. lactis subspp. lactis</i> (TAUL 95, TAUL 119 e TAUL 1292)	Formaggio di capra		—
<i>Lc. lactis subspp. lactis biovar diacetylactis</i> 19 MMC	Latte di capra		Diacetile
<i>Lc. lactis subspp. lactis var. diacetylactis</i> (TAUL 13), <i>Ln. mesenteroides subspp. dextranicum</i> (TAUL 1368 e 1795), <i>Ln. mesenteroides subspp. mesenteroides</i> (TAUL 34), <i>Lb. plantarum</i> (TAUL 1539) e <i>Lb. brevis</i> (TAUL 68 e TAUL 1267)	Formaggio di capra		Perossido di idrogeno

<i>Lc. sakei</i> GM3	Latte di capra		Batteriocine
<i>Lc. lactis subsp. lactis</i> (BGZLM1) e <i>Lc. lactis subsp. lactis</i> (BGMN1596)	Formaggio di capra		Batteriocine
<i>E. faecium</i> (UNIVASF CAP 29)	Latte di capra	Tecnologico	Esopolisaccaridi
<i>Ln. mesenteroides subsp. mesenteroides</i> (TAU 34), <i>Lb. casei subsp. casei</i> (TAUL 1506, 1508,1522)	Formaggio di capra		Amminopeptidasi
<i>Lb. casei subsp. casei</i> IFPL 731	Formaggio di capra		Peptidasi
<i>Lb. fermentum</i> CRL1446	Formaggio di capra		Esterasi
<i>Lb. fermentum</i> CRL1446	Formaggio di capra		CLA
<i>Lb. casei subsp. casei</i> (LCB17), <i>Lb. casei subsp. rhamnosus</i> (LCB26)	Latte di capra		BSH
<i>Lb. plantarum</i> (TAUL 1736)	Formaggio di capra	Funzionale	β -galattosidasi
<i>Lc. lactis subsp. cremoris</i> (TAUL 1351)	Formaggio di capra		α -galattosidasi
<i>Lb. plantarum</i> e <i>Lb. paracasei</i>	Formaggio di capra		Fitasi
<i>Lb. fermentum</i> CRL1446	Formaggio di capra		Feruloil esterasi

CLA = acidi linoleico e linolenico coniugati; BSH= idrolizzati dei sali biliari

(Viana de Souza e Silva Dias, 2017)

a. AZIONE PROTETTIVA

La proprietà protettiva può essere attribuita alla capacità di tali ceppi autoctoni di produrre, durante la fermentazione, determinati composti quali acidi organici, diacetile, perossido di idrogeno e batteriocine, che hanno effetti positivi non solo sul gusto, l'odore, il colore e la consistenza di prodotti fermentati di capra, ma anche sulla sicurezza di tali prodotti, in quanto inibiscono la crescita di organismi patogeni e degradativi prolungandone in tal modo la shelf-life.

I batteri lattici sono in grado di produrre una serie di acidi organici, quali acido lattico, acetico, succinico, propionico, formico e butirrico, dalla fermentazione degli zuccheri. Questi acidi, oltre a ridurre il pH del substrato in cui crescono i batteri, hanno anche effetto inibitorio su molti batteri, patogeni e non, lieviti e muffe. I batteri lattici autoctoni dal latte di capra con capacità acidificante studiati da Viana de Souza e Silva Dias (2017) sono risultati in grado di ridurre la popolazione di *Escherichia coli* e *Salmonella* nel formaggio di capra da prodotto.

Il diacetile (2,3-butanedione) è un metabolita volatile, prodotto da batteri lattici, che può inibire la crescita di microrganismi patogeni bloccando la sintesi di arginina ed impedendo quindi la produzione di proteine essenziali per la cellula.

Alcuni batteri lattici possono produrre ed accumulare perossido di idrogeno (H_2O_2) a livelli con effetto inibitorio nei confronti di altri batteri. L'effetto battericida di questo metabolita è dato dalla forte caratteristica ossidante della molecola sulle cellule. H_2O_2 dimostra un'efficacia ad ampio spettro contro virus, batteri, lieviti e spore batteriche. L'effetto antimicrobico può però essere ridotto dalla presenza di catalasi, perossidasi e superossido dismutasi nei substrati alimentari. In genere, batteri lattici isolati dai prodotti caseari di capra, in particolare ceppi di *Lactococcus*, *Enterococcus*, *Lactobacillus* e *Weisiella*, producono perossido di idrogeno.

Le batteriocine prodotte da batteri lattici sono le più studiate, in quanto i batteri lattici sono spesso isolati da alimenti e sono caratterizzati dallo stato di GRAS. Le batteriocine sono composti stabili, biodegradabili, digeribili, sicuri ed hanno attività a basse concentrazioni; per questi motivi sono utilizzate per la conservazione degli alimenti. L'azione delle batteriocine è efficace anche nella produzione di formaggi. È stato osservato che l'utilizzo di ceppi di *Streptococcus* produttori di nisina per la produzione di formaggio svizzero ha prevenuto il difetto di rigonfiamento causato da ceppi di *Clostridium*. La nisina è una batteriocina attualmente riconosciuta dalla Food and Drug Administration ed è usata come conservante alimentare.

Il formaggio di capra è risultato essere un'eccellente fonte per l'isolamento di ceppi produttori di batteriocine avendo un alto livello di biodiversità nell'ambito dei ceppi appartenenti ai generi *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Enterococcus* e *Weisella*, che sono i maggiori produttori di queste sostanze.

b. PROPRIETÀ TECNOLOGICHE

I batteri lattici autoctoni hanno un ruolo importante nel miglioramento delle caratteristiche sensoriali e di texture e del sapore irchino tipico dei prodotti di capra derivati.

Il primo contributo al sapore da parte dei batteri lattici è dato dalla fermentazione dei carboidrati che, oltre a trasformare il lattosio in acido lattico, genera altre molecole organiche, tra cui acetaldeide, diacetile, acido acetico ed etanolo, che contribuiscono al profilo aromatico complessivo del prodotto finito.

Altre importanti caratteristiche metaboliche dei ceppi che hanno un riscontro a livello tecnologico sono l'attività proteolitica e lipolitica, che contribuiscono ai corrispondenti processi che si verificano durante la fase di maturazione dei formaggi. La proteolisi è una delle principali modificazioni biochimiche ad opera di enzimi proteolitici per lo sviluppo dell'aroma. Gli enzimi degradano caseine e peptidi, liberando amminoacidi che vengono ulteriormente degradati per produrre composti volatili, come aldeidi, acidi, alcoli ed esteri, che influiscono direttamente sull'aroma. La capacità dei batteri lattici e di altri microrganismi isolati da formaggi di svolgere il catabolismo degli amminoacidi è fortemente dipendente dal ceppo. E' stato evidenziato come i formaggi di capra realizzati con starter autoctoni abbiano ottenuto punteggi più alti per gli attributi sensoriali, soprattutto per l'aroma, rispetto a quelli realizzati con culture starter commerciali (de Souza e Dias, 2017).

Anche gli acidi grassi liberi e gli esteri da essi derivati sono composti aromatici importanti nel formaggio. Gli acidi grassi liberi sono rilasciati durante la lipolisi e possono essere trasformati dai microrganismi in più potenti composti aromatici, quali metilchetoni, lattoni, esteri, alcoli secondari ed aldeidi.

Il latte di capra presenta elevate quantità di acidi grassi a media e corta catena in condizioni normali, mentre nel formaggio caprino, gli enzimi dei batteri lattici sono responsabili dell'idrolisi di acidi grassi a corta catena, tra cui acido acetico, propionico, butirrico e caprilico, che sono i principali responsabili del sapore piccante del formaggio di capra. Da alcuni studi è emerso che ceppi di *Lactobacillus spp.* ed *Enterococcus spp.* isolati da latte e formaggio di capra sono in grado di sintetizzare gli esteri di acidi grassi a catena corta che rappresentano i principali composti di aroma desiderabili nel latte e nel formaggio di capra (de Souza e Dias, 2017).

c. PROPRIETÀ FUNZIONALI

Il latte di capra è fonte di molti componenti biologicamente attivi. Batteri lattici isolati da prodotti caseari di capra contribuiscono positivamente ai benefici per la salute offerti dal latte di capra attraverso la produzione di composti funzionali, quali eso-polisaccaridi (EPS), vitamine, peptidi e lipidi bioattivi, che vengono rilasciati nell'alimento.

La carenza di vitamina B12 può comportare alterazioni dei sistemi neurologico, cardiovascolare ed emopoietico. E' stato riportato che un ceppo di *Lactobacillus coryniformis* (CECT 5711) isolato da formaggio di capra è in grado di produrre il precursore di questa vitamina, e pertanto potrebbe essere un buon candidato utilizzabile nelle fermentazioni per aumentare il contenuto di cobalamina (precursore della vitamina B12) in alimenti fermentati. Un'altra importante vitamina, la riboflavina, ha un'influenza su metabolismo cellulare. Le forme più attive a livello biologico sono coinvolte in molte reazioni redox essenziali per la funzionalità di cellule aerobie. Ceppi di *Streptococcus thermophilus* e *Lactococcus lactis* isolati da latte crudo e formaggio di capra sono risultati buoni produttori di riboflavina.

Diversi studi hanno riportato di ceppi di batteri lattici in grado di produrre peptidi bioattivi durante la fermentazione del latte. I peptidi bioattivi vengono liberati dalle proteine e di solito sono composti da 2-20 amminoacidi. Questi possono influenzare numerose risposte fisiologiche, compresa quella cardiovascolare, digestiva, endocrina, immunitaria e neurologica. I lipidi bioattivi invece si formano durante la lipolisi e sono rappresentati principalmente dagli acidi linoleico e linolinico coniugati (CLA), il cui consumo è associato ad effetti anticancerogeni, antiossidante ed ipocolesterolemici.

I batteri lattici isolati dal latte caprino inoltre producono la β -galattosidasi, un enzima che catalizza l'idrolisi del lattosio nelle sue componenti, glucosio e galattosio. Questo enzima è molto importante per la produzione di latte o formaggi senza lattosio, adatti ai consumatori intolleranti ad esso.

Sulla base di tutte le informazioni riportate nella review de Souza e Dias (2017) si evince che selezionare batteri lattici autoctoni risulta una scelta più efficace in termini di miglioramento di sapore e valore funzionale di derivati del latte di capra rispetto all'utilizzo di culture commerciali.

4.3 ESOPOLISACCARIDI

Numerosi microrganismi sono in grado di sintetizzare un ampio spettro di polisaccaridi multifunzionali. I polisaccaridi sono molecole ad alto peso molecolare le cui unità ripetitive sono collegate tramite un legame glicosidico. Possono essere molto diversi, a partire dalla loro composizione che varia da 100 fino a 90.000 unità di monomeri, ma la caratteristica che li accomuna è quella di liberare monosaccaridi tramite idrolisi. Ne esistono svariate tipologie differenti, che vengono prodotte dalle cellule microbiche per specifiche attività. Si hanno infatti polisaccaridi strutturali, polisaccaridi intracellulari e polisaccaridi extracellulari - gli esopolisaccaridi. Questi ultimi, in particolare, sono polimeri ad alto peso molecolare che vengono secreti dal microrganismo che li produce nell'ambiente che lo circonda (Hussain *et al.*, 2017). Si differenziano tra loro in base a:

- Monomeri che li compongono: si distinguono principalmente due gruppi, gli omopolisaccaridi, i quali sono composti da un solo tipo di unità di monosaccaridica, e quindi a seguito di idrolisi forniscono un'unica tipologia di zucchero, e gli eteropolisaccaridi, i quali in seguito a idrolisi producono più di un tipo di unità monosaccaride.
- Peso molecolare: dipendente dalla composizione in monosaccaridi
- Legami che formano: in genere le unità monosaccaridiche sono unite da legami glicosidici di tipo β -1,4, oppure β -1,3 e α -1,2 e α -1,6. Da questi legami dipende la rigidità della molecola.
- Grado di ramificazione: la presenza/assenza di ramificazioni nella catena centrale, la frequenza di ramificazioni che questa presenta, i sostituenti diversi dai carboidrati (come piruvato, acetato, fosfato e succinato) che sono legati e la lunghezza delle ramificazioni sono tutti aspetti che influenzano le proprietà reologiche degli esopolisaccaridi, poiché da essi dipende la compattezza della struttura.

Gli esopolisaccaridi generalmente vengono prodotti a livelli di 10-1000 mg/L (Duboc e Mollet, 2001) e sono ampiamente utilizzati in molti settori grazie alle loro funzionalità, dipendenti dalle caratteristiche chimico-fisiche riproducibili, combinate con costi di produzione stabili e non eccessivi (Hussain *et al.*, 2017). Per questi motivi hanno quindi una vasta gamma di applicazioni, mostrate nella tabella 13, che dipendono direttamente dalla loro natura, composizione e struttura.

Tabella 13: Tipologia, proprietà e applicazioni di esopolisaccaridi

Esopolisaccaride	Microrganismo produttore	Proprietà	Applicazione
Alginato	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Azotobacter spp.</i>	Produzione di film, capacità gelificante	Idrocolloidi alimentari, rivestimenti di medicinali a rilascio controllato
Destrano	<i>Leuconostoc mesenteroides</i> , <i>Lactobacillus hilgardii</i> , <i>Leuconostoc dextranicum</i> , <i>Streptococcus mutans</i>	Carattere non ionico, buona stabilità e comportamento fluido	Industria farmaceutica ed alimentare
Cellulosa	<i>Acetobacter xylinum</i> , <i>Pseudomonas spp.</i> , <i>Agrobacterium rhizobium spp.</i>	Elevata resistenza alla trazione	Fibra alimentare non digeribile, in campo biomedico per scopi di guarigione delle ferite e applicati nell'ingegneria dei tessuti
Succinoglicani	<i>Alcaligenes faecalis var. myxogenes</i>	Molto viscoso, stabilità all'acidità	Recupero di alimenti e oli
Glucuronato	<i>Sinorhizobium meliloti</i> , <i>Gluconacetobacter</i>	Capacità di gelificante e di rafforzamento/strutturante	Prodotti alimentari e cosmetici
Acido ialuronico	<i>Streptococcus spp.</i>	Adesione cellulare, motilità cellulare,	Mercato cosmetico,

		guarigione delle ferite, pseudo plastica e viscoelastica.	idratanti per la pelle, chirurgia oftalmica, guarigione delle ferite e rivestimento superficiale
Emulsano	<i>Acinetobacter calcoaceticus</i>	Capacità di formare emulsioni olio in acqua stabili	Prodotti di consumo e farmaceutici
Levano	<i>Alcaligenes viscosus</i> , <i>Zymomonas mobilis</i> , <i>Bacillus subtilis</i>	Proprietà polimeriche medicinali	Settore alimentare, medico, cosmetico, farmaceutico e commerciale
Kefirano	<i>Lactobacillus hilgardii</i> , <i>L. rhamnosus</i> , <i>L. kefir</i> , <i>L. kefiranofasciens</i>	Attività antibatterica, antifungina, antitumorale e fibre prebiotiche non digeribili	Miglioramento della texture in alimenti fermentati
Gellano	<i>Aureomonas elodea</i> , <i>Sphingomonas paucimobilis</i> , <i>Sphingomonas elodea</i>	Stress ad alto rendimento e bassa viscosità	Produzione nell'industria alimentare di gel liquidi, film commestibili, gelatine da dessert, marmellate e microcapsule

(adattata da Hussain *et al.*, 2017)

In ambito alimentare, gli esopolisaccaridi svolgono un ruolo chiave nella formazione di biofilm, facilitando l'adesione iniziale delle cellule sulle superfici degli impianti utilizzati per le lavorazioni industriali di alimenti. In questo caso rappresentano un

pericolo, perché i biofilm sono difficili da eliminare, essendo architetture complesse di cellule microbiche molto resistenti che impediscono la corretta disinfezione e sanitizzazione degli impianti. Se impiegati in opportune condizioni ed applicazioni, i ceppi di microrganismi in grado di produrre queste sostanze, appositamente aggiunti alle matrici alimentari da fermentare, possono risultare un grande valore aggiunto. Gli esopolisaccaridi hanno proprietà uniche, come l'elevata resistenza in forma di gel, ma possiedono anche svantaggi tecnologici quali la capacità di formare schiuma e l'elevata viscosità, che rallentano alcuni processi (Hussain *et al.*, 2017). E' pertanto possibile sfruttare i microrganismi che producono queste molecole in diverse produzioni. Gli esopolisaccaridi prodotti da batteri lattici caratterizzati dallo stato di GRAS ("generalmente riconosciuto come sicuro"), rappresentano un'importante alternativa naturale all'uso di additivi e addensanti (Zhu *et al.*, 2019).

4.3.1 USO DI BATTERI PRODUTTORI DI ESOPOLISACCARIDI NEI PRODOTTI LATTIERO-CASEARI

Gli esopolisaccaridi hanno un ruolo fondamentale nella produzione di alcuni derivati fermentati del latte tipici dell'Europa e dell'Asia.

I lattici fermentati sono prodotti per coagulazione acida del latte, senza rimozione del siero, ad opera di microrganismi caratteristici che debbono mantenersi vivi e vitali fino al momento del consumo.

La coagulazione acida del latte avviene tramite l'inoculo di colture starter che, fermentando il substrato, abbassano il pH del latte fino a 4,7 grazie alla produzione di acido lattico. Questo però, essendo più acido delle caseine, aumenta la solubilità degli ioni calcio presenti nella matrice tanto che, una volta raggiunto il punto isoelettrico (pH 4,7), questo risulta completamente solubilizzato e pertanto viene a mancare l'elemento aggregante e stabilizzante delle caseine, che quindi precipitano. Le caseine denaturate si uniscono e formano una rete, al cui interno viene trattenuto il siero. Quando una forza meccanica rompe questo gel, esso si divide in piccole particelle che si disperdono nella fase liquida, il siero, e generano così la tipica consistenza più o meno fluida di questi prodotti, tra cui sono compresi yogurt, latticello fermentato, creme acide, Kefir e Koumiss. I microrganismi utilizzati come starter per queste fermentazioni sono vari e possono essere utilizzati in combinazione come colture starter miste, composte da più

specie di batteri lattici. La tabella 14 mostra una panoramica della maggior parte dei batteri lattici utilizzabili per la fermentazione del latte.

Tabella 14: Batteri lattici coinvolti nella produzione di latti fermentati

	Microrganismo	Esempi di latte fermentato
Lattococchi	<i>L. lactis subsp. lactis</i>	Latticello fermentato, Kefir
	<i>L. lactis subsp. cremoris</i>	Latticello fermentato, Kefir, Dahi
	<i>L. lactis subsp. diacetylactis</i>	Latticello fermentato, Kefir, Dahi
Lattobacilli	<i>L. delbrueckii subsp. delbrueckii</i>	Bevande a base di latte fermentato, yogurt
	<i>L. delbrueckii subsp. lactis</i>	Bevande a base di latte fermentato
	<i>L. delbrueckii subsp. bulgaricus</i>	Yogurt, mozzarella, latticello
	<i>L. helveticus</i>	Kefir, Koumiss, mozzarella
	<i>L. acidophilus</i>	Kefir, Latte acido
	<i>L. paracasei subsp. paracasei</i>	Bevande a base di latte fermentato
	<i>L. johnsonii</i>	Yogurt probiotici e bevande a base di latte fermentato
	<i>L. casei</i>	Yogurt probiotici
	<i>L. paracasei</i>	Yogurt probiotici
	<i>L. kefir</i>	Kefir
	<i>L. brevis</i>	Kefir
	<i>L. rhamnosus</i>	Kefir
Streptococchi	<i>S. thermophilus</i>	Yogurt, Dahi, mozzarella
Leuconostoc	<i>L. mesenteroides subsp. mesenteroides</i>	Kefir, creme acide
	<i>L. mesenteroides subsp. cremoris</i>	Kefir, creme acide
	<i>L. mesenteroides subsp. dextranicum</i>	Kefir, creme acide

(adattata da Duboc e Mollet, 2001)

a. YOGURT

Per la produzione di yogurt si parte da latte trattato termicamente, omogeneizzato e standardizzato nel quale si inocula la flora starter che innesca la fermentazione. I batteri più utilizzati per il latte bovino sono *Streptococcus thermophilus* e *Lactobacillus bulgaricus*. Il primo è in grado di crescere più rapidamente, quindi prende il sopravvento all'inizio della fermentazione, mentre il secondo interviene in un secondo momento, acidificando maggiormente la massa in fermentazione. In genere queste due specie sono miscelate ed addizionate insieme, e pertanto si tratta di una coltura starter mista, ma non è detto che siano presenti in uguale quantità. La carica batterica necessaria alla fermentazione è di 10^6 - 10^7 UFC/g e si possono aggiungere in maniera diretta. Successivamente si possono effettuare due tipi di fermentazione:

- **Rapida:** inoculo 1-3% in coltura liquida, incubazione a 40-45°C, in genere 42-43°C. La fermentazione giunge al termine in circa 2-4 ore. Come termine della fermentazione si usa come riferimento il raggiungimento di pH 4,5.
- **Lenta:** entità dell'inoculo inferiore, 1,0-1%, incubazione a 30-32°C. La fermentazione procede per 15-18 ore.

Il coagulo formatosi allora può essere mantenuto intero o si può rompere.

I batteri lattici devono essere omofermentanti, così da non produrre acido acetico e CO₂. Occorre tenere in considerazione che un'acidificazione troppo rapida della matrice porta a uno spurgo eccessivo del siero e quindi ad un prodotto finale che non ha le giuste caratteristiche sensoriali e di texture. La fermentazione viene terminata tramite raffreddamento. È necessario indurlo per evitare di acidificare troppo la massa ed evitare potenziali effetti di sineresi; inoltre, in questa fase si deve bloccare completamente la fermentazione per non rischiare di avere post-fermentazioni, che avvengono dopo il confezionamento.

Per la produzione di yogurt a partire da latte caprino si seguono circa le stesse fasi tecnologiche. Non viene effettuata la scrematura e l'omogeneizzazione, in quanto i globuli lipidici sono già di dimensioni sufficientemente ridotte. Il prodotto finale però non possiede le caratteristiche tipiche dello yogurt. Per migliorare le caratteristiche di texture si può quindi ricorrere, oltre alla concentrazione precedente alla fermentazione e all'aggiunta di addensanti, all'utilizzo di ceppi di batteri lattici che producono esopolisaccaridi. La texture del prodotto finale, per quanto riguarda lo yogurt

(soprattutto quello caprino), dipende strettamente dall'uso di addensanti o esopolisaccaridi.

Gli addensanti hanno due funzioni principali in un prodotto come questo: in primo luogo servono per legare la fase acquosa, ed in secondo luogo per ridurre la sineresi, ovvero evitare il più possibile l'allontanamento del siero dalla matrice porosa del gel. Gli stabilizzanti utilizzati a livello industriale in genere hanno anche funzione di rinforzo e miglioramento della consistenza del prodotto, abbinata ad un aumento della viscosità. Il loro utilizzo è ampiamente influenzato dalla percentuale di sostanza secca presente nel latte in partenza: minore è questa percentuale, maggiore sarà la loro necessità di utilizzo (Duboc e Mollet, 2001).

Addensanti ed esopolisaccaridi interagiscono e si legano entrambi con il gel proteico, costituito da caseine e siero intrappolato nella maglia; tuttavia, lo stesso effetto addensante si può ottenere mediante esopolisaccaridi prodotti naturalmente dai batteri, quindi escludendo l'aggiunta di conservanti ed additivi. L'applicazione di ceppi microbici produttori di esopolisaccaridi nell'ambito dei prodotti caprini è relativamente recente, ma è risultata molto positiva, in quanto contribuiscono in maniera efficiente al miglioramento di texture, gusto, percezione in bocca e stabilità del prodotto.

Per poter utilizzare batteri lattici fermentanti che allo stesso tempo producano esopolisaccaridi, si devono incubare le culture starter a temperatura di crescita quasi ottimale affinché si abbia sia un aumento della conta totale, necessaria per fermentare il latte, sia la produzione di esopolisaccaridi. La biosintesi di esopolisaccaridi risulta legata alla sintesi di zuccheri nucleotidici ed alla produzione di energia dal metabolismo primario dei carboidrati. In diversi studi è stata riscontrata la produzione di esopolisaccaridi associata alla crescita della colonia.

Anche nello yogurt generato da latte bovino possono essere utilizzati gli esopolisaccaridi per migliorare texture e consistenza senza ricorrere all'aggiunta di addensanti o gelificanti, ma in genere questa operazione viene svolta solo se necessario, ovvero quando il latte di partenza non è sufficientemente ricco di sostanza secca oppure quando non risulta di qualità adeguata (Duboc e Mollet, 2001).

Il successo dell'applicazione di esopolisaccaridi è determinato dalla loro capacità di legare l'acqua, interagire con le proteine e aumentare la viscosità del siero. L'obiettivo del loro utilizzo è ottenere un prodotto con un aspetto compatto, nel quale non avvenga

la sineresi una volta confezionato (nessuna separazione di fasi) e che abbia una consistenza cremosa e resistente. Tuttavia, poiché la produzione di un solo tipo di esopolisaccaride potrebbe non soddisfare tutte le specifiche di texture, può essere contemplata anche l'ipotesi di produrre diverse molecole polisaccaridiche da uno o più ceppi starter. In questo modo è possibile adattare con precisione la texture di un prodotto finale alle preferenze del consumatore, diverse da un paese ad un altro.

In un prodotto come lo yogurt si distinguono due caratteristiche reologiche molto importanti per la texture finale:

- Viscosità: è la proprietà di un materiale di resistere alla deformazione. Nel contesto dei prodotti lattiero-caseari fermentati questo attributo può essere descritto come sensazione “viscida” o fluida.
- Elasticità: è la proprietà di un materiale di recuperare la sua forma originale dopo una deformazione subita.

Entrambe le proprietà sono importanti per la qualità organolettica di un prodotto, per il suo aspetto e la sensazione piacevole al palato. È stato osservato da Duboc e Mollet (2001), che la viscosità di prodotti a base di latte fermentato diminuisce durante la fase di mescolamento; ciò significa che più vigorose sono le condizioni di agitazione, più fluido (dotato di minore consistenza e densità) sarà il prodotto finale. Si è anche evidenziato che la viscosità aumenta nuovamente durante la fase di riposo/maturazione del prodotto, ovvero grazie alla propria elasticità, una volta terminata la fase di agitazione e messo a riposo, il prodotto recupera la propria consistenza. In uno yogurt caprino ottenuto da ceppi starter che non producono esopolisaccaridi quindi la viscosità è bassa e la texture finale tende ad essere granulare (Duboc e Mollet, 2001).

Le interazioni tra polisaccaridi non neutri e proteine sono state studiate da Pleijsier *et al.* (2000). In tale studio, svolto su campioni di latte bovino, sono stati presi in esame due ceppi, *Lactobacillus helveticus* 766 e *L. helveticus* 291, che producono esopolisaccaridi neutri e due ceppi, *L. sakei* 0-1 e *L. paracasei* 34-1, che invece producono esopolisaccaridi carichi negativamente. Questi ceppi sono stati usati per fermentare diversi campioni di latte dei quali è stata misurata la viscosità finale. È risultato che la viscosità del prodotto contenente esopolisaccaridi neutri è aumentata fino a un valore di circa 10 volte superiore di quella del campione di controllo (latte fermentato con starter che non producono esopolisaccaridi); per contro, la viscosità del prodotto contenente esopolisaccaridi carichi elettricamente è risultata paragonabile al prodotto di controllo.

Il potere addensante degli esopolisaccaridi è notevole e confrontabile con quello di altri addensanti industriali, ma dal momento che i polisaccaridi prodotti da diversi batteri lattici variano notevolmente in composizione, carica, disposizione spaziale, rigidità e capacità di interagire con le proteine, non si evince nessuna chiara correlazione tra le concentrazioni di esopolisaccaridi misurate nei campioni e la viscosità del prodotto. Sebbene il meccanismo alla base delle interazioni tra esopolisaccaridi e costituenti del latte nei prodotti fermentati sia scarsamente conosciuto, è certo che la carica della molecola e la quantità di legami che può effettuare hanno ruolo determinante sulle proprietà fisiche del prodotto finale.

b. FORMAGGIO SPALMABILE

Ceppi di batteri lattici in grado di produrre esopolisaccaridi sono stati usati in uno studio condotto da Florencia (2013) per la produzione di formaggio di capra spalmabile. Lo scopo di questo studio è stato di confrontare le caratteristiche di formaggi spalmabili ottenuti con starter lattici autoctoni dove in un campione sono stati utilizzati ceppi produttori di esopolisaccaridi e nell'altro no; i ceppi utilizzati in questo studio sono stati isolati da formaggi di capra. Sono state utilizzate le combinazioni di colture di starter autoctoni elencate nella tabella 15. Tali formaggi spalmabili ottenuti per coagulazione acida o mista sono risultati caratterizzati da una texture omogenea e leggermente morbida, un sapore leggermente acido ed una consistenza liscia al palato. Le proprietà reologiche di questi prodotti sembrano aver svolto un ruolo determinante nell'accettazione del consumatore, e per questo motivo questa varietà di formaggio potrebbe beneficiare enormemente dall'applicazione di ceppi produttori di esopolisaccaridi. Questi polimeri formano grandi masse dalla struttura densa e filamentosa che interagiscono con la rete proteica di un prodotto come il formaggio ottenuto da coagulazione acida.

Tabella 15: combinazioni di culture usate come starter

Combinazione culture	Componenti culture	Descrizione dei componenti della cultura	Proporzioni
	CRL 1799	Ceppo acidificante <i>Lactobacillus fermentum</i>	

Non produttori di esopolisaccaridi	CRL 1803	Ceppo proteolitico <i>Lactobacillus fermentum</i>	1:1:1
	CRL 1785	Ceppo produttore di composti aromatici <i>Enterococcus faecium</i>	
Produttori di esopolisaccaridi	CRL 1799	Ceppo acidificante <i>Lactobacillus fermentum</i>	1:1:1:3
	CRL 1803	Ceppo proteolitico <i>Lactobacillus fermentum</i>	
	CRL 1785	Ceppo produttore di composti aromatici <i>Enterococcus faecium</i>	
	CRL 1808	Ceppo produttore di esopolisaccaridi <i>Lactobacillus rhamnosus</i>	

(Florenzia, 2013)

Il campione che non conteneva esopolisaccaridi ha sviluppato una struttura poco piacevole alla vista, abbastanza liquida e granulata, senza la tipica consistenza di un formaggio spalmabile a differenza del campione che conteneva esopolisaccaridi, il quale è risultato alla vista più omogeneo e compatto, simile ad un prodotto spalmabile. È stato osservato che, includendo negli starter di formaggi spalmabili di capra ceppi che producono esopolisaccaridi, si può influire positivamente sulla reologia, poiché la texture viene migliorata senza l'aggiunta di addensanti o stabilizzatori. Nonostante questi miglioramenti il gel però è risultato ancora debole e fragile quando viene applicata una forza di trascinamento, e pertanto il solo impiego di batteri lattici produttori di esopolisaccaridi non è sufficiente per generare un prodotto che abbia tutte le caratteristiche di un formaggio spalmabile. Si può però pensare di applicare questa strategia in combinazione con altre tecnologie di arricchimento o concentrazione della sostanza secca nel latte.

c. FETA

Il formaggio Feta appartiene alla famiglia dei formaggi indigeni del Mediterraneo e del Medio Oriente. Ha consistenza friabile, non troppo cremosa, il tipico sapore salato, leggermente acido ed esternamente si presenta liscio e compatto, adatto per essere tagliato senza perdere la sua forma. Il formaggio viene prodotto utilizzando esclusivamente latte ovino, oppure con una miscela di latte ovi-caprino, quando necessario, in cui comunque la quantità di latte caprino non deve superare il 30% del totale di latte utilizzato. Questo rapporto tra latte caprino ed ovino non è importante solo a livello economico, ma anche per le caratteristiche sensoriali del prodotto finale. Altri fattori che possono influire sulla consistenza del formaggio sono la temperatura di conservazione, le culture starter e la concentrazione di sale.

Nello studio di Tsigkros *et al.* (2003), sono stati analizzati campioni con un diverso contenuto di latte caprino (0%, 14,7%, 25% e 30%) che sono comunque stati prodotti tutti allo stesso modo. Gli autori dello studio hanno rilevato che la qualità e la scelta delle materie prime nella produzione di formaggio Feta è importante ed è stato osservato che, con l'aumento della percentuale di latte caprino utilizzato, è aumentata anche la consistenza del formaggio. Molti fattori influenzano la consistenza finale del formaggio Feta, compresi grassi, proteine e contenuto di umidità, ma anche la concentrazione di sale usata durante la salamoia. In generale, elevata acidità, proteine e solidi totali contenuti rendono il formaggio più consistente e meno deformabile. Tuttavia, nei campioni di formaggio studiati in questa indagine, la mancanza di una significativa variazione del contenuto di grasso ed umidità della cagliata ha evidenziato che le variazioni della consistenza del formaggio finale sono legate alla composizione proteica originale del latte. Di fatti l'umidità finale dei campioni di formaggio analizzati non è variata in modo significativo, in quanto il trattamento di salamoia è stato identico per tutti i campioni. Inoltre, il livello di umidità del formaggio non sembra essere correlato alla concentrazione di latte caprino utilizzato.

Immagini al microscopio a scansione elettronica del formaggio Feta prodotto con il 100% di latte ovino (figura 8a) mostrano una distribuzione caratteristica di globuli di grasso all'interno di una rete a forma di pizzo della struttura della caseina. Questa struttura è apparsa di carattere relativamente poroso. Il campione di formaggio Feta contenente il 25% di latte caprino (figura 8b) ha mostrato caratteristica simile: i globuli di grasso distribuiti casualmente all'interno della rete di caseina, anche se la rete di caseina in

questo campione sembra essere meno porosa e mostra segni di conglomerazione. Questa compattezza della rete indica un maggiore sviluppo della struttura all'interno del formaggio, che a sua volta potrebbe essere responsabile dell'aumento della durezza dei campioni di formaggio rilevato dall'analisi della texture. I campioni contenenti il 30% di latte caprino (figura 8c) hanno mostrato una netta differenza rispetto a quelli di latte ovino al 100%. In particolare, la rete di caseina sembrava essere meno porosa e più aggregata. Di nuovo, questo spiegherebbe l'aumento nella durezza del formaggio osservata nel caprino al 30% campione di Feta di latte.

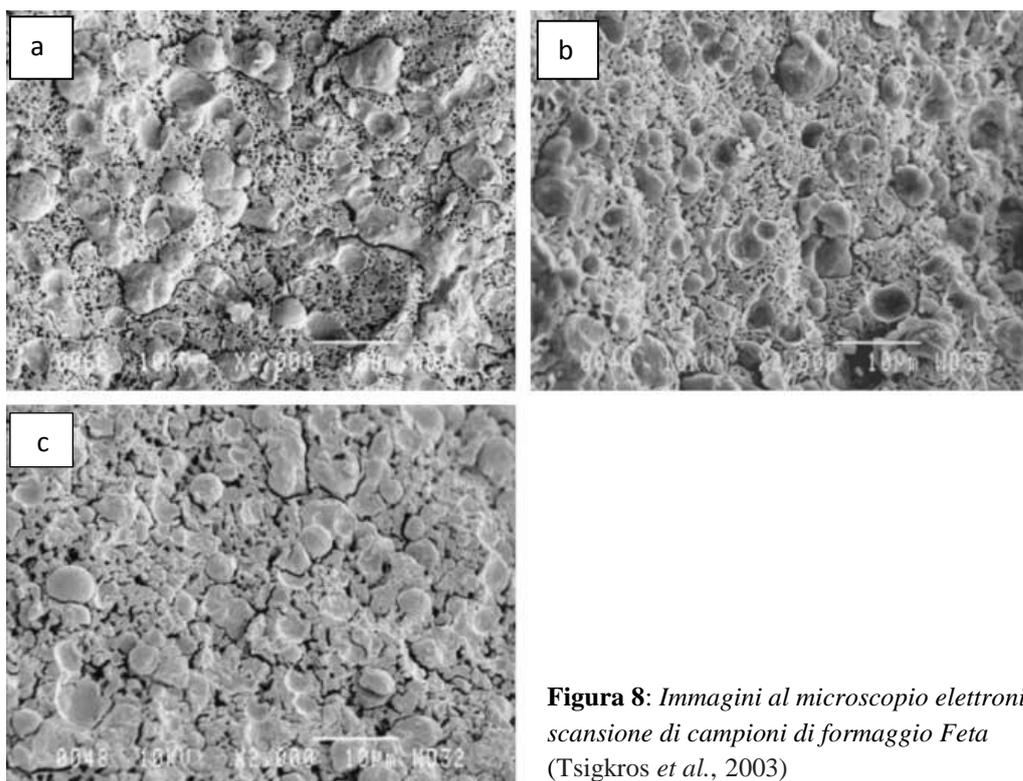


Figura 8: Immagini al microscopio elettronico a scansione di campioni di formaggio Feta (Tsigkros *et al.*, 2003)

I risultati di questo studio mostrano un chiaro legame tra la composizione del latte utilizzato per produrre la Feta e le caratteristiche di texture dei formaggi ottenuti. Le percentuali di latte caprino aggiunto sembrano modificare notevolmente la microstruttura del formaggio Feta, riducendone il grado di porosità e quindi influenzando la durezza del formaggio.

4.3.2 PROSPETTIVE INERENTI FUTURI STUDI E RICERCHE SUI CEPPI PRODUTTORI DI ESOPOLISACCARIDI

Gli effetti della produzione *in situ* di esopolisaccaridi sulla texture finale del latte fermentato sono complicati perché influenzati da molti fattori, non solo la quantità di EPS prodotti, ma anche la natura della molecola stessa, l'acidità del latte, la sua composizione ed il tempo di fermentazione. Essendo però una tecnologia ancora in fase di sviluppo, se l'intenzione è quella di usare ceppi produttori di esopolisaccaridi nell'industria lattiero-casearia, la premessa iniziale dovrebbe essere quella di selezionare ceppi con elevate potenzialità in termini di miglioramento della viscosità e delle caratteristiche sensoriali della matrice del latte e, conseguentemente, dei prodotti da essa derivati (Zhu *et al.*, 2019).

Il crescente numero di applicazioni a livello industriale legate all'uso di polimeri naturali in anni recenti ha anche aumentato l'importanza e l'interesse per la produzione di esopolisaccaridi. Per questo motivo è necessario continuare il lavoro di ricerca e di screening per la ricerca di microrganismi in grado di produrre tali molecole al fine di migliorarne ulteriormente l'utilizzo e la commercializzazione, soprattutto in campo alimentare e farmaceutico. Le principali sfide che si interpongono all'utilizzo ed alla commercializzazione di esopolisaccaridi, su cui verte attualmente la ricerca ed il miglioramento in laboratorio, sono la individuazione ed identificazione dei ceppi produttori e l'identificazione della natura della molecola, la produzione di EPS con nuove strutture e proprietà funzionali *ad hoc* per diverse applicazioni, i costi di produzione e sviluppo del processo di "downstream" (Hussain *et al.*, 2017). Inoltre, l'instabilità genetica della produzione di esopolisaccaridi è un serio ostacolo alla loro applicazione a livello industriale. Diversi studi hanno riportato una riduzione od una perdita totale della produzione di esopolisaccaridi, od addirittura un cambiamento nella composizione. L'instabilità è stata osservata per i ceppi in cui i geni codificanti la produzione di esopolisaccaridi sono stati introdotti utilizzando come vettore i plasmidi. Sebbene gli elementi trasponibili siano stati identificati nelle vicinanze od anche all'interno di gruppi di geni codificanti queste molecole, per il momento non è stato confermato che siano la causa principale delle instabilità osservate (Duboc e Mollet, 2001).

Negli ultimi anni sono stati condotti molti studi ed è stato portato avanti lo screening di ceppi microbici produttori di esopolisaccaridi isolati da diverse fonti alimentari, quali

kefir e sottaceti fermentati. Tuttavia, per una cultura starter, un'ulteriore selezione genetica risulta necessaria: si devono scegliere ceppi in grado di adattarsi all'ambiente utilizzato come substrato (latte di capra) e sintetizzare esopolisaccaridi in modo continuativo nel tempo senza che si abbia la perdita di questa caratteristica metabolica. Questo perché i ceppi di batteri che producono esopolisaccaridi hanno un grande potenziale commerciale: in accordo con Zhu *et al.* (2019), oltre alle caratteristiche tecnologiche, alcune di queste molecole possiedono anche diversi effetti fisiologici benefici tra cui funzione antiossidante, antitumorale, immunomodulante; inoltre possono abbassare il livello di colesterolo ed assumere un ruolo prebiotico agendo come substrati fermentabili per la microflora intestinale. Si ipotizza inoltre, che la viscosità degli alimenti contenenti esopolisaccaridi potrebbe aumentare il tempo di permanenza nel tratto gastrointestinale e quindi risultare vantaggioso per la colonizzazione transitoria da parte dei batteri probiotici. Un ulteriore beneficio che apportano gli esopolisaccaridi è la liberazione di acidi grassi a corta catena (SCFA) a seguito della loro degradazione nell'intestino da parte della microflora del colon. Gli acidi grassi a corta catena forniscono energia alle cellule epiteliali e si pensa abbiano un ruolo importante nella prevenzione del cancro del colon. Infine, nel contesto degli "starter funzionali" introdotti di recente, la ricerca di ceppi di batteri lattici con buone proprietà sia tecnologiche che probiotiche risulta cruciale per la potenziale applicazione di nuovi ceppi non solo nell'industria casearia, ma nella produzione di cibo in generale (Zhu *et al.*, 2019).

CAPITOLO 5
CONCLUSIONI

Negli ultimi anni il latte di capra ha suscitato una particolare attenzione da parte dei consumatori, a questo proposito l'industria alimentare è interessata ad aumentare le produzioni e a ricercare maggiore varietà di prodotti lattiero-caseari ottenuti da questa matrice, soprattutto per quanto riguarda i latti fermentati, quali yogurt e kefir.

Lo scopo di questo elaborato è stato quello di condurre uno studio preliminare volto ad indagare le principali pratiche di miglioramento ed innovazione applicate al latte di capra per migliorarne le caratteristiche tecnologiche. A tale proposito sono stati riportati molti studi, condotti in tutto il mondo, riguardanti metodologie differenti tra loro, alcune più affermate di altre.

In conclusione si può affermare che le tecniche di aggiunta o concentrazione della sostanza secca sono già ampiamente utilizzate nel settore e perciò gli studi più recenti al riguardo sono volti alla ricerca di nuove fonti di sostanza secca più efficienti, da poter utilizzare in sostituzione del latte in polvere o delle sieroproteine. Tra le pratiche biotecnologiche, invece, assumono rilevante importanza gli enzimi transglutaminasi e le culture starter contenenti ceppi di batteri lattici in grado di produrre esopolisaccaridi. Questi due trattamenti in particolare rappresentano la frontiera più innovativa e coerente con le richieste di mercato, che vedono in aumento la domanda di prodotti senza additivi e conservanti, tanto che le sperimentazioni vengono condotte su diverse tipologie di prodotti fermentati a base di latte di capra, soprattutto latti fermentati.

CAPITOLO 6
BIBLIOGRAFIA E SITOGRAFIA

Ardelean A.I., Otto C., Jaros D., Rohm H. (2012), *Transglutaminase treatment to improve physical properties of acid gels from enriched goat milk*, Small Ruminant Research 106: 47-53

Bouhallab S., Leconte N., Le Graet Y., Garem A. (2002), *Heat induced coagulation of goat milk: modification of the environment of the casein micelles by membrane process*, Lait 82: 673–681

Corradini C. (1995), *Chimica e Tecnologia del Latte*, Tecniche nuove, Milano 8: 69-104

Delgado K.F., da Silva Frasao B., da Costa M.P., Junior C.A.C. (2017), *Different alternatives to improve rheological and textural characteristics of fermented goat products - a review*, Rheology 1: 106

Domagała J., Wszolek M., Tamime A.Y., Kupiec-Teahan B. (2013), *The effect of transglutaminase concentration on the texture, syneresis and microstructure of set-type goat's milk yoghurt during the storage period*, Small Ruminant Research 112: 154– 161

Duboc P., Mollet B. (2001), *Applications of exopolysaccharides in the dairy industry*, International Dairy Journal 11: 759-768

Florencia F.S. (2013), *Rheology of spreadable goat cheese made with autochthonous lactic cultures differing in their ability to produce exopolysaccharides*, Food Science Technology 33(2): 233-238

Gursel A., Gursoy A., Anli E.A.K, Budak S.O., Aydemir S., Durlu-Ozkaya F. (2016), *Role of milk protein-based products in some quality attributes of goat milk yogurt*, Journal of Dairy Science 99(4): 2694-2703

Herrero A.M. and Requena T. (2006), *The effect of supplementing goat's milk with whey protein concentrate on textural properties of set-type yoghurt*, International Journal of Food Science Technology 41:87–92

Hussain A., Zia K.M., Tabasum S., Noreen A., Ali M., Iqbal R., Zuber M. (2017), *Blends and composites of exopolysaccharides; properties and applications: A review*, International Journal of Biological Macromolecules 94: 10-27

Isleten M. and Karagul-Yuceer Y. (2006), *Effects of dried dairy ingredients on physical and sensory properties of nonfat yogurt*, Journal of Dairy Science 89:2865–2872

Martín-Diana A.B., Peláez C., Requena T. (2004), *Rheological and structural properties of fermented goat's milk supplemented with caseinomacropeptide and whey protein concentrate*, Milchwissenschaft 59: 383-386

Miocinovic J., Miloradovic Z., Josipovic M., Nedeljkovic A., Radovanovic M., Pudja P. (2016), *Rheological and textural properties of goat and cow milk set type yoghurts*, International Dairy Journal 58: 43-45

Morgan F., Massouras T., Barbosa M., Roseiro L., Ravasco F., Kandarakis I., Bonnin V., Fistakoris M., Anifantakis E., Jaubert G., Raynal-Ljutovac K. (2003), *Characterisation of goat milk collected by small and medium enterprises from Greece, Portugal and France*, Small Rumin 47: 39–49

Mucchetti G., Neviani E. (2006), *La composizione del latte*, In *Microbiologia e tecnologia lattiero-casearia*, Tecniche nuove, Milano, 51-90.

Park Y.W. (2007), *Rheological characteristics of goat and sheep milk*, Small Ruminant Research 68: 73-87

Park Y.W., Juárez M., Ramos M., Haenlein G.F.W. (2007), *Physico-chemical characteristics of goat and sheep milk*, Small Ruminant Research 68: 88-113

Pleijzier M.T., De Bont P.W., Vreeker R., Ledebouer A. M. (2000), *Functional properties of exocellular polysaccharides in dairy based foods*, 2nd International Symposium on Food Rheology and Structure, Zurich, 12-16

Posecion N.C., Crowe N.L., Robinson A.R., Asiedu S.K. (2005), *The development of a goat's milk yogurt*, Journal of Food Science and Agriculture 85: 1909-1913.

Ramunno L., Pauciullo A., Mancusi A., Cosenza G., Mariani P., Malacarne M. (2007), *Influenza del polimorfismo genetico delle caseine calcio-sensibili su caratteristiche strutturali, nutrizionali, attitudine casearia e proprietà ipoallergeniche del latte di capra*, Scienza e Tecnica lattiero-casearia 58 (4): 257-271

Raynal-Ljutovac K., Lagriffoul G., Paccard P., Guillet I., Chilliard Y. (2008), *Composition of goat and sheep milk products: An update*, Small Ruminant Research 79: 57-72

Raynal-Ljutovac K., Park Y.W., Gaucheron F., Bouhallab S. (2007), *Heat stability and enzymatic modifications of goat and sheep milk*, Small Ruminant Research 68: 207–220

Remeuf F., Verdalet-Guzmar I. & Lenoira J. (1995), *Technological adjustment of goat milk containing low synthesis-rate α_1 -casein variants*, Dairy Journal 5: 381-392

Rodriquez-Nogales J.M. (2006), *Effect of preheat treatment on the transglutaminase-catalyzed cross-linking of goat milk proteins*, Process Biochemistry 41: 430–437

Salvadori del Prato O. (2004), *Latte e formaggi caprini - Tecniche delle produzioni casearie*, Bologna, Edagricole

Stocco G., Pazzola M., Dettori M.L., Paschino P., Bittante G., Vacca G.M. (2018), *Effect of composition on coagulation, curd firming and syneresis of goat milk*, Journal of Dairy Science 101 (11): 9693-9702

Tamime A.Y., Wszolek M., Božanić R., Özer B. (2011). *Popular ovine and caprine fermented milks*, Small Ruminant Research 101: 2–16

Taufiq T., Tiyas & Septiana Anindita, Nosa & Hadisaputro, Widodo (2013), *Fermented goat milk and cow milk produced by different starters of lactic acid bacteria: quality studies*, Journal of Agricultural Science and Technology 3:1939-1250

Tomotake H., Okuyama R., Katagiri M., Fuzita M., Yamato M., Ota F. (2006), *Comparison between Holstein Cow's Milk and Japanese-Saanen Goat's Milk in Fatty Acid Composition, Lipid Digestibility and Protein Profile*, Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry 70 (11): 2771-2774

Tsigkros D., Folland E., Moate R. And. Brennan C.S (2003), *Feta cheese texture: the effect of caprine and ovine milk concentration*, Society of Dairy Technology 56(4): 233-236

Viana de Souza J. and Silva Dias F. (2017), *Protective, technological, and functional properties of select autochthonous lactic acid bacteria from goat dairy products*, Current Opinion in Food Science 13:1-9

Wang H., Wang C., Wang M. and Guo M. (2017), *Chemical, physiochemical, and microstructural properties, and probiotic survivability of fermented goat milk using polymerized whey protein and starter culture kefir mild 01*, Journal of Food Science 82(11): 2650-2658

Zhu Y., Wang X., Pan W., Shen X., He Y., Yin H., Zhou K., Zou L., Chen S., Liu S. (2019), *Exopolysaccharides produced by yogurt-texture improving Lactobacillus plantarum RS20D and the immunoregulatory activity*, International Journal of Biological Macromolecules 121: 342-349

<http://www.fao.org/faostat/en/#home>

<http://www.ruminantia.it/capre-da-latte-andamento-della-produzione-strutturata-aziendale-ed-economia-attuali/>

<https://www.clal.it/>

<https://www.istat.it/>