



Università degli Studi di Torino  
Facoltà di Farmacia

# LATTE

Corso di Chimica Bromatologica  
Corso di Chimica degli Alimenti

Definizione merceologica del latte destinato al consumo umano. Ghiandola

U1

mammaria: struttura anatomica e cenni di fisiologia. Origine biosintetica dei principali costituenti del latte. Composizione chimica media nelle varie specie animali.

Composizione chimica e caratteristiche chimico-fisiche del latte bovino: frazione

U2

lipidica (globuli di grasso, origine biosintetica degli acidi grassi e loro distribuzione nelle varie specie), frazione proteica (caseine, sieroproteine, enzimi e NPN, struttura e funzioni dei complessi caseinici e micelle), frazione glucidica (lattosio) ed altre sostanze (acidi organici).

U3

Cenni legislativi: latte destinato al consumo umano, caratteristiche compositive e trattamenti termici ammessi. Durabilità.

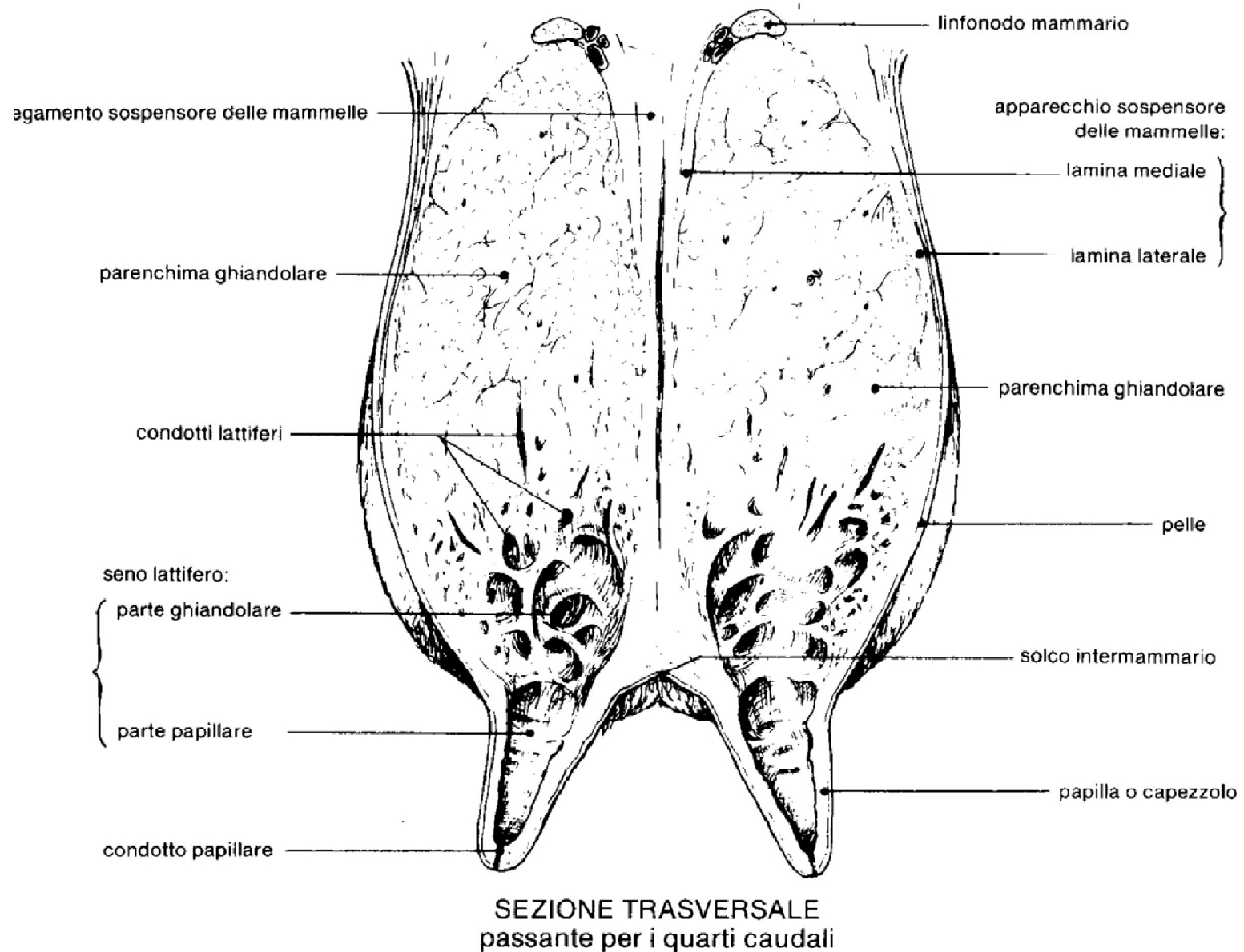
U4

Marker di trattamento termico: effetti su sostanze native e sostanze di neo-formazione: attività enzimatica residua, lattulosio, lattulosil-lisina e furosina, AGEs. Loro correlazione ed andamento in funzione del rapporto tempo/temperatura.

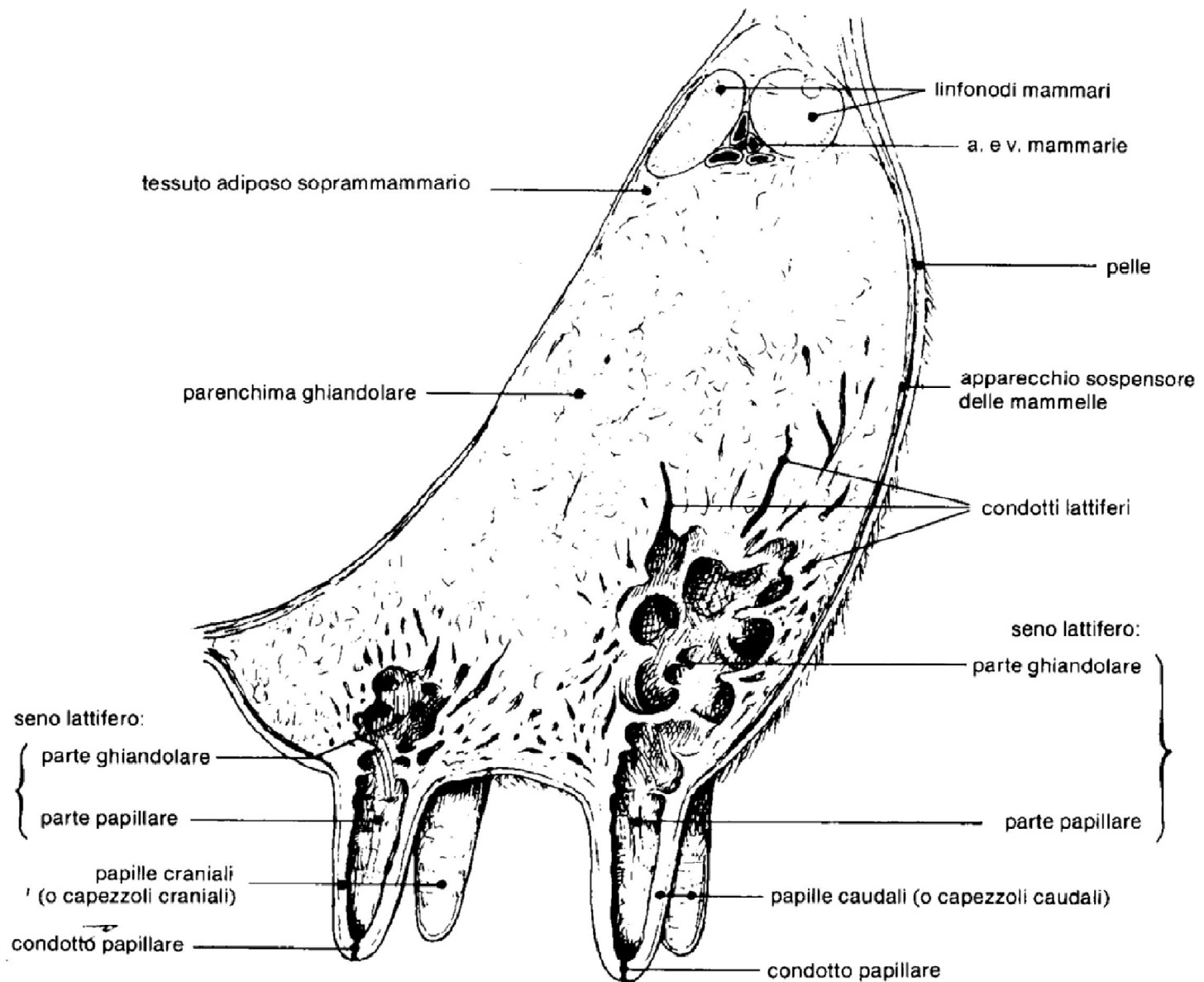
# IL LATTE

Il latte è il prodotto della secrezione delle ghiandole mammarie delle femmine dei mammiferi. Delle circa 3000 specie solo alcune degli Artiodattili (bovini, yak, bufali, caprini, ovini, cammelli e renne) e dei Perissodattili (cavalli, asini) producono latte utilizzato per alimentazione o trasformazione.

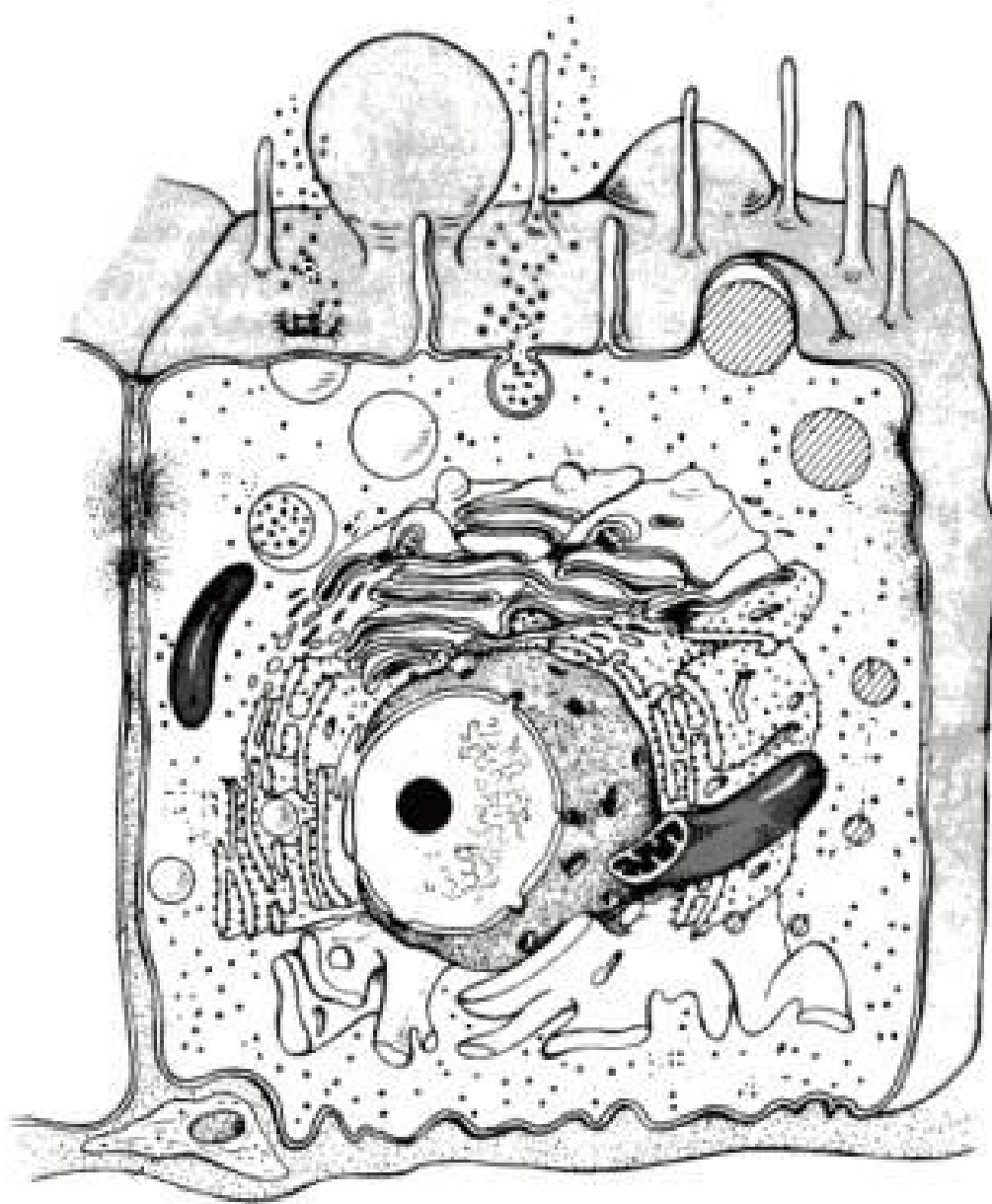
## CONFORMAZIONE INTERNA DELLE MAMMELLE DELLA VACCA

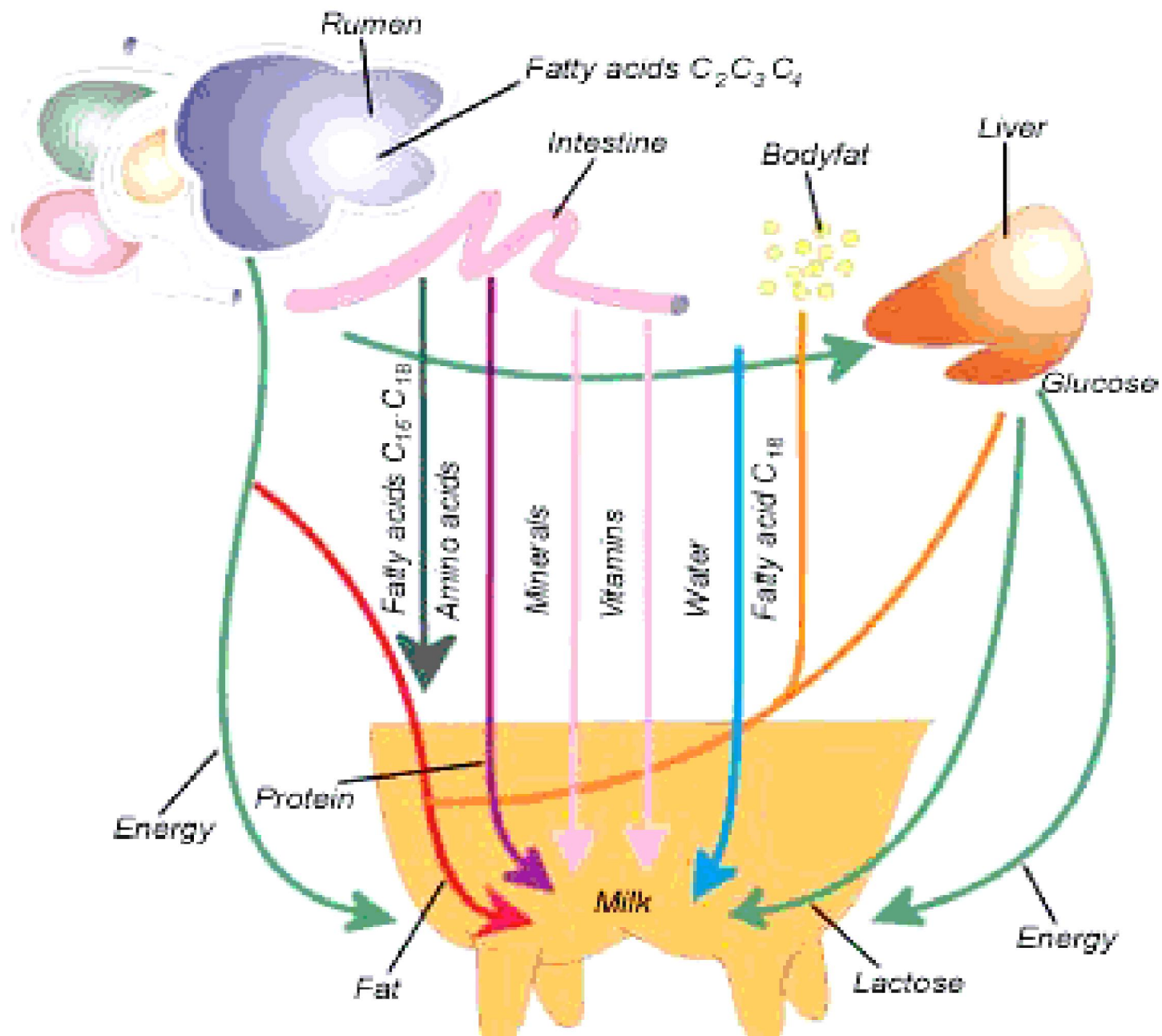






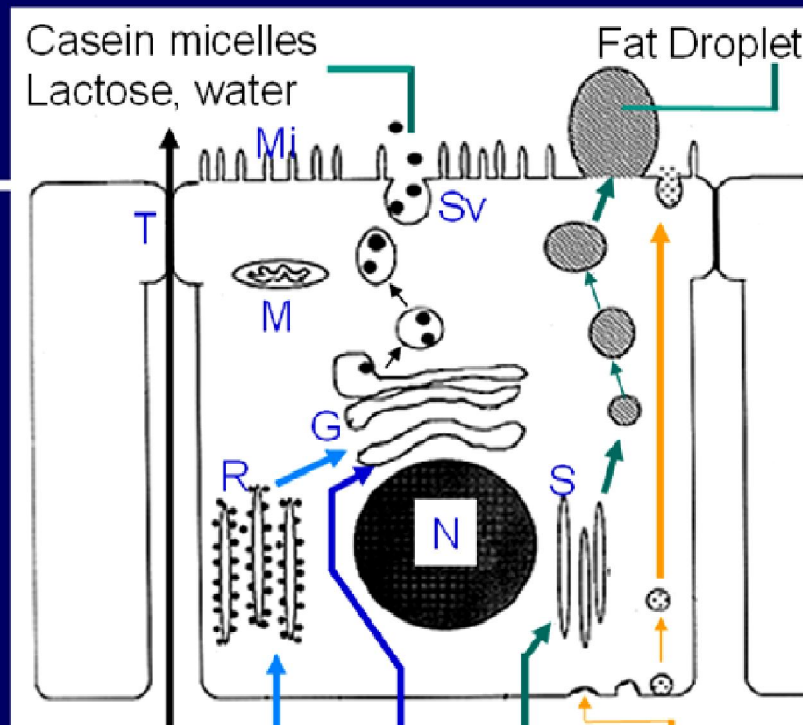
**SEZIONE SAGITTALE**  
passante per i quarti sinistri





## Origin of Milk Components

MILK  
SECRETORY  
CELLS



### LEGEND:

Mi = Microvilli  
M = Mitochondria  
G = Golgi Apparatus  
R = Rough Endoplasmic reticulum  
S = Smooth Endoplasmic reticulum  
N = Nucleus  
T = Tight Junction  
Sv = Secretory vesicles

Pathway:

	1	2	3	4	5
Blood	Salts	Amino acids	Glucose	Fatty acids, Glycerol,	Immuno-
Precursors:	Leucocytes		Ions	Acetate, B-hydroxy-butyrate	globulins

Costituenti	Sangue (g/dl)	Latte (g/dl)
Acqua	91	86
Glucosio	0,05	Tr
Lattosio	0	4,6
Aminoacidi liberi	0,02	Tr
Caseine	0	2,8
$\beta$ -lattoglobulina	0	0,32
$\alpha$ -lattoglobulina	0	0,13
Immunoglobuline	2,6	0,07
Albumina	3,2	0,05
Triacilgliceridi	0,06	3,7
Fosfolipidi	0,25	0,035
Acido citrico	tr	0,18
Acido orotico	0	0,008
Calcio	0,01	0,13
Fosforo	0,01	0,10
Sodio	0,34	0,05
Potassio	0,025	0,15
Cloro	0,35	0,11

# Definizioni Merceologiche

U1

**Art. 2 del DPR n. 54 del 14/01/1997** " il latte crudo è il prodotto della mungitura regolare, completa e ininterrotta di animali (vacche, pecore, capre o bufale) in buono stato di salute, di alimentazione e in corretta lattazione"

**Reg. 853/2004** "latte crudo : il latte prodotto mediante secrezione della ghiandola mammaria di animali di allevamento che non è stato riscaldato a più di 40 °C e non è stato sottoposto ad alcun trattamento avente un effetto equivalente"

Il latte è una miscela complessa di componenti in:

- soluzione (zuccheri, sali, vitamine idrosolubili, sostanze azotate non proteiche;
- stato colloidale (proteine, parte dei fosfati e citrati di calcio);
- emulsione (lipidi, vitamine liposolubili)

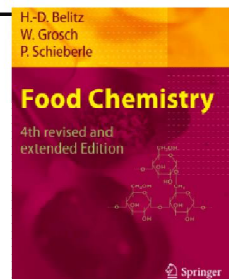
# Elementi strutturali del latte

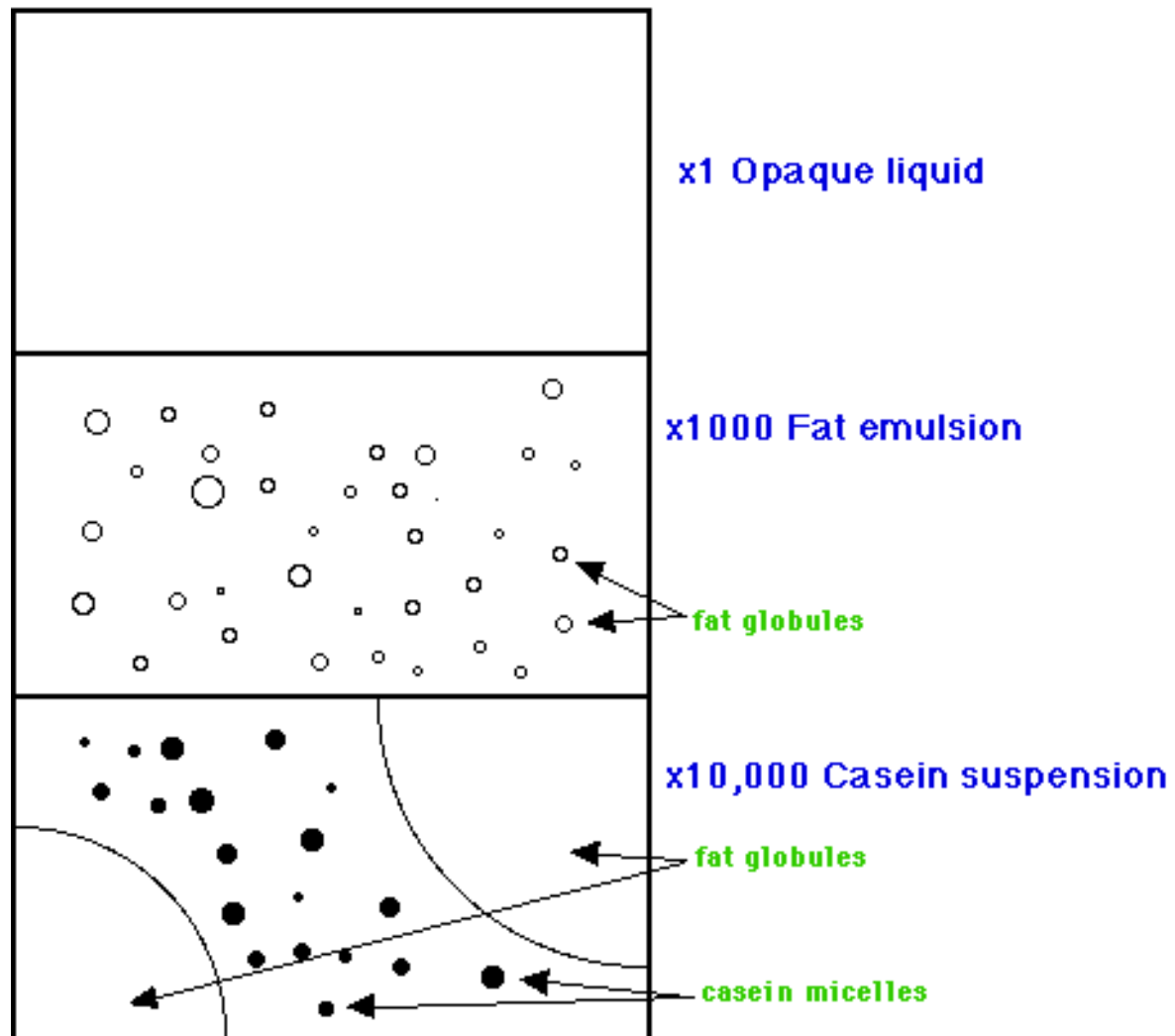
U1

**Table 10.4.** Main structural elements of milk

Name	Type of dispersion	Percentage	Number ( $1^{-1}$ )	Diameter (mm)	Surface ( $m^2/l$ milk)	Specific density <sup>a</sup> (g/ml)
Fat globules	Emulsion	3.8	$10^{13}$	100–10,000	70	0.92
Casein micelles	Suspension	2.8	$10^{17}$	10–300	4000	1.11
Globular proteins (whey proteins)	Colloidal solution	0.6	$10^{20}$	3–6	5000	1.34
Lipoprotein particles	Colloidal suspension	0.01	$10^{17}$	10	10	1.10

<sup>a</sup> 20 °C.







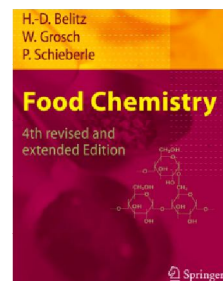
# Composizione media in funzione della specie

U1

**Table 10.5.** Composition of human milk and milk of various mammals (%)

Milk	Protein	Casein	Whey protein	Sugar	Fat	Ash
Human	0.9 <sup>a</sup>	0.4	0.5	7.1	4.5	0.2
Cow (bovine)	3.2	2.6	0.6	4.6	3.9	0.7
Donkey	2.0	1.0	1.0	7.4	1.4	0.5
Horse	2.5	1.3	1.2	6.2	1.9	0.5
Camel	3.6	2.7	0.9	5.0	4.0	0.8
Zebu	3.2	2.6	0.6	4.7	4.7	0.7
Yak	5.8			4.6	6.5	0.9
Buffalo	3.8	3.2	0.6	4.8	7.4	0.8
Goat	3.2	2.6	0.6	4.3	4.5	0.8
Sheep	4.6	3.9	0.7	4.8	7.2	0.9
Reindeer	10.1	8.6	1.5	2.8	18.0	1.5
Cat	7.0	3.8	3.2	4.8	4.8	0.6
Dog	7.4	4.8	2.6			
Rabbit	10.4					

<sup>a</sup> After the 15-th day of the breast feeding period the protein content is increased to 1.6%.



# Caratteristiche chimico-fisiche del latte vaccino

U1

## Composizione chimica e principali caratteristiche del latte vaccino

Acqua (%)	86.9-88.5
Materia grassa (%)	3.3-4.4
Lattosio (%)	4.8-5.1
Sostanze azotate (%)	2.8-3.3
Sali minerali (%)	0.6-0.8
Estratto secco totale (%)	11-13
Estratto secco magro (%)	8.5-9.5
pH	6.5-6.7
Acidità di titolazione	6-8 °SH (Soxhlet-Henkel)* 14-18 °D (Dornic)** 0.14-0.18 g/100 ml lattico
Densità a 20 °C	1.030-1.033 intero g/ml
Punto di congelamento	-0.530 ÷ -0.540 °C

\* mL di NaOH N/4 necessari per neutralizzare fino al viraggio della fenolftaleina 100 mL di latte

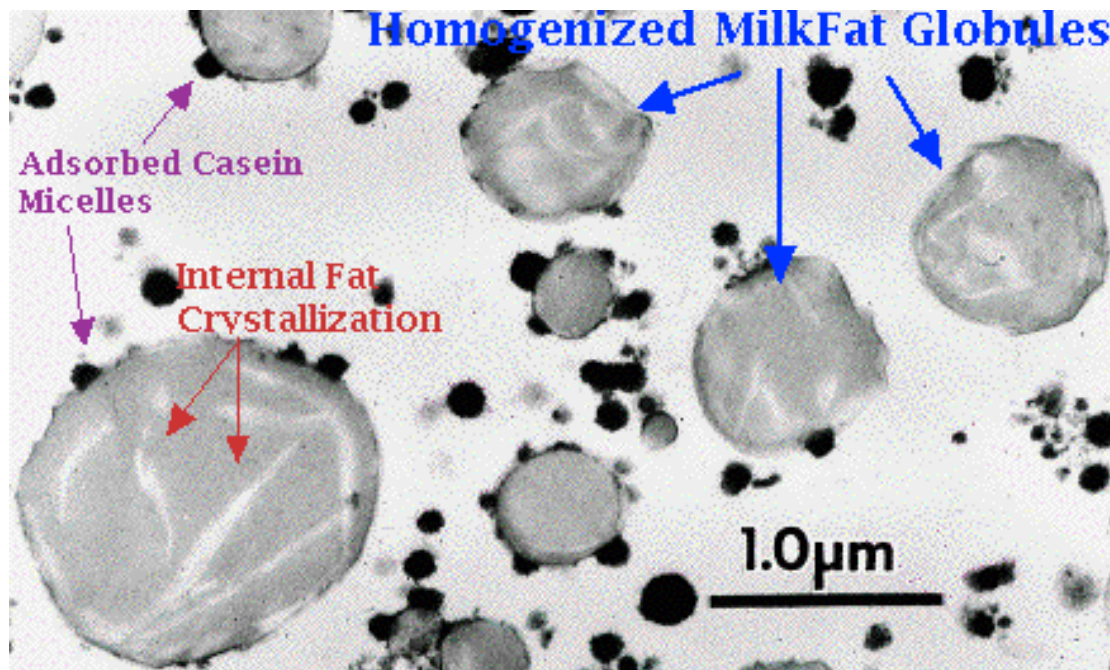
\*\* mL di NaOH N/9 necessari per neutralizzare fino al viraggio della fenolftaleina 100 mL di latte

# COMPOSIZIONE - Sostanza grassa

U2

**Globuli di grasso** (diametro medio 3  $\mu\text{m}$  per vaccino e 1  $\mu\text{m}$  per l'ovino).

Il grasso del latte ovi-caprino non si separa per centrifugazione o affioramento e non rimane inglobato nel reticolo caseinico (formaggi più bianchi, siero più grasso), irrancidisce più facilmente (più globuli, maggiore rapporto superficie/volume)



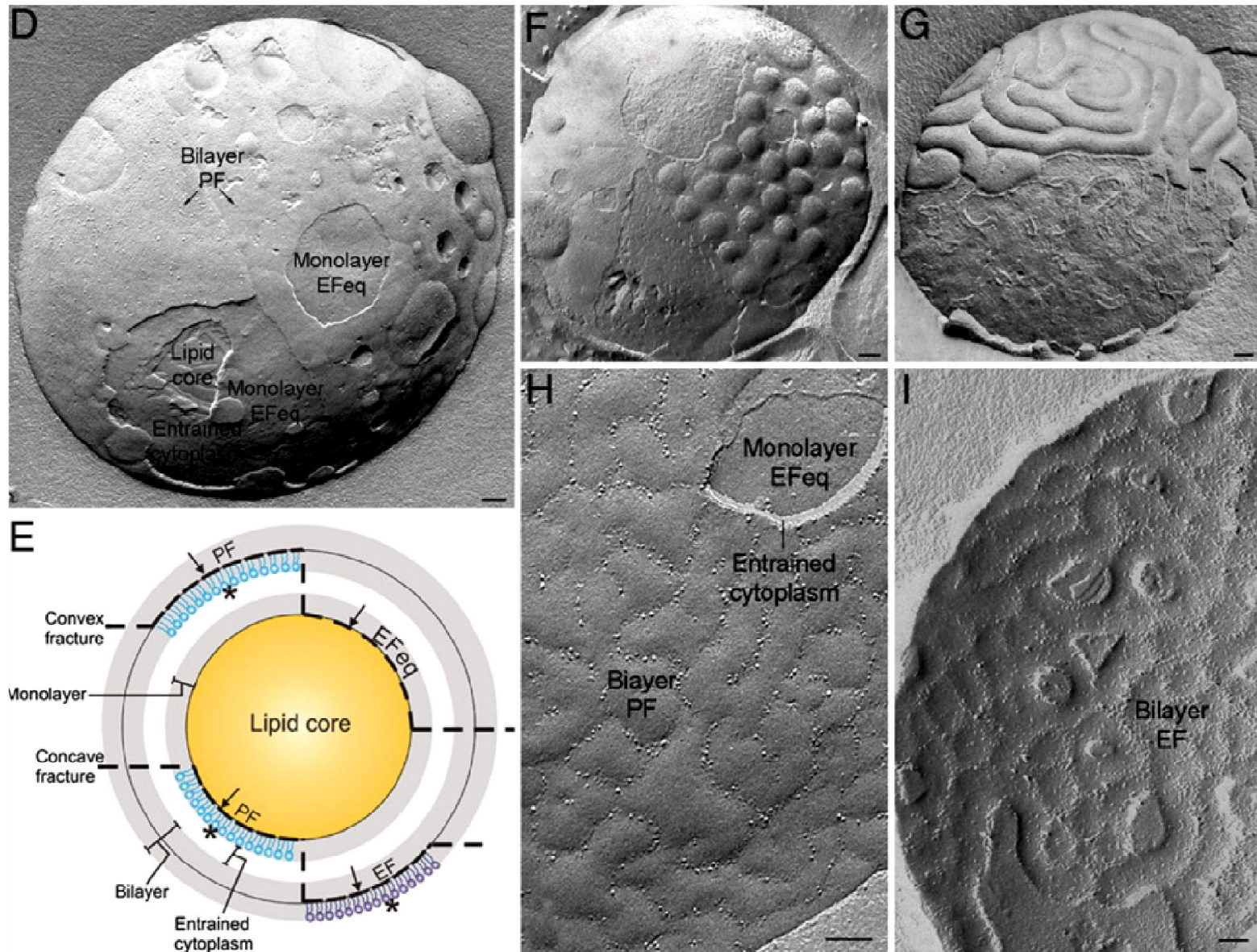
- Formati da **membrana** (proteine, fosfolipidi, colesterolo), **parte intermedia** (lipidi ad alto punto di fusione), **parte interna** (lipidi a basso punto di fusione)

- Nella parte interna presenti anche pigmenti (carotenoidi, xantofille) e vitamine (A, D, E, K)



# COMPOSIZIONE - Sostanza grassa

U2



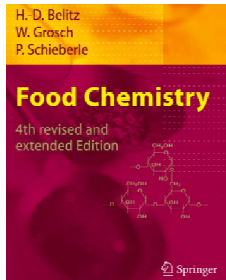
<http://www.pnas.org/content/103/27/10385/F1.expansion.html>

# COMPOSIZIONE - Sostanza grassa

U2

Table 10.17. Milk lipids

Lipid fraction	Percent of the total lipid
Triacylglycerols	95–96
Diacylglycerols	1.3–1.6
Monoacylglycerols	0.02–0.04
Keto acid glycerides	0.9–1.3
Hydroxy acid glycerides	0.6–0.8
Free fatty acids	0.1–0.4
Phospholipids	0.8–1.0
Sphingolipids	0.06
Sterols	0.2–0.4



➤ All'interno di una specie la composizione del grasso del latte **varia poco a seconda della razza** e molto **di più in funzione dell'alimentazione**

➤ Una alimentazione con erba fresca favorisce la presenza di acidi insaturi a lunga catena (minore Pf-burro più morbido) mentre l'alimentazione con fieno e prodotti ricchi di cellulosa favorisce la sintesi di acidi grassi saturi (pf maggiore - burro più duro).

# COMPOSIZIONE - Sostanza grassa

U2

Acido grasso	Neosintesi %	da VDLH
C4- C10	100	0
C12	80-90	10-20
C14	30-40	60-70
C16	20-30	70-80
C18	0	100

Circa il 50 % del grasso deriva direttamente dai grassi a lunga catena della dieta (VLDL plasmatiche), delle sintesi ruminali e dei lipidi di riserva corporea.

Il rimanente 50% deriva dalla neosintesi a partire dagli acidi grassi volatili **Ac. acetico e b-OH butirrico** prodotti dalle fermentazioni ruminali.

# COMPOSIZIONE - Sostanza grassa

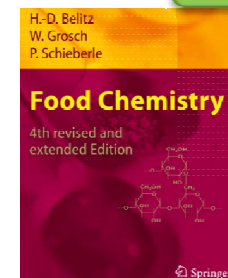
U2

Table 10.18. Fatty acid composition of milk fat<sup>a</sup>

Fatty acid	Weight-%
Saturated, straight chain	
Butyric acid	2.79
Caproic acid	2.34
Caprylic acid	1.06
Capric acid	3.04
Lauric acid	2.87
Myristic acid	8.94
Pentadecanoic acid	0.79
Palmitic acid	23.8
Heptadecanoic acid	0.70
Stearic acid	13.2
Nonadecanoic acid	0.27
Arachidic acid	0.28
Behenic acid	0.11
Saturated, branched chain	
12-Methyltetradecanoic acid	0.23
13-Methyltetradecanoic acid	0.14
14-Methylpentadecanoic acid	0.20
14-Methylhexadecanoic acid	0.23
15-Methylhexadecanoic acid	0.36
3,7,11,15-Tetramethylhexadecanoic acid	0.12–0.18

Unsaturated	
9-Decenoic acid	0.27
9-cis-Tetradecenoic acid	0.72
9-cis-Hexadecenoic acid	1.46
9-cis-Heptadecenoic acid	0.19
8-cis-Octadecenoic acid	0.45
Oleic acid	25.5
11-cis-Octadecenoic acid	0.67
9-trans-Octadecenoic acid	0.31
10-trans-Octadecenoic acid	0.32
11-trans-Octadecenoic acid	1.08
12-trans-Octadecenoic acid	0.12
13-trans-Octadecenoic acid	0.32
14-trans-Octadecenoic acid	0.27
15-trans-Octadecenoic acid	0.21
16-trans-Octadecenoic acid	0.23
Linoleic acid	2.11
Linolenic acid	0.38

<sup>a</sup> Only acids with a content higher than 0.1% are listed.



# COMPOSIZIONE - Sostanze azotate

U2

Si dividono in

- **caseine**

(as1, as2, b, k, g dalla b, l dalla as1): 80% circa delle proteine del latte

- **sieroproteine**

20% circa delle proteine del latte (più abbondanti nei latti ovi-caprini)

- **sostanze azotate non proteiche**

(NPN) : 5-7%; PM < 500, non precipitano



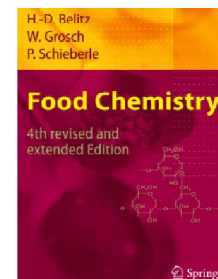
# COMPOSIZIONE - Sostanze azotate

U2

**Table 10.7.** Bovine milk proteins

Fraction	Genetic variants	Portion <sup>a</sup>	Isoionic point	Molecular weight <sup>b</sup> (kdal)	Phosphorus content (%)
<i>Caseins</i>		80	—	—	0.9
$\alpha_{s1}$ -Casein	A, B, C, D, E	34	4.92–5.35	23.6 <sup>f</sup>	1.1
$\alpha_{s2}$ -Casein	A, B, C, D	8		25.2 <sup>g</sup>	1.4
$\kappa$ -Casein	A, B, C, E	9	5.77–6.07	19 <sup>h</sup>	0.2
$\beta$ -Casein	A <sup>1</sup> , A <sup>2</sup> , A <sup>3</sup> , B, C, D, E	25	5.20–5.85	24	0.6
$\gamma$ -Casein		4	5.8–6.0	12–21	0.1
$\gamma_1$ -Casein	A <sup>1</sup> , A <sup>2</sup> , A <sup>3</sup> , B			20.5	
$\gamma_2$ -Casein	A <sup>1</sup> /A <sup>2</sup> , A <sup>3</sup> , B			11.8	
$\gamma_3$ -Casein	A <sup>1</sup> /A <sup>2</sup> /A <sup>3</sup> , B			11.6	
<i>Whey proteins</i>		20	—	—	
$\beta$ -Lactoglobulin	A, B, C, D, E, F, G	9	5.35–5.41	18.3	
$\alpha$ -Lactalbumin	A, B, C	4	4.2–4.5 <sup>e</sup>	14.2	
Serum albumin	A	1	5.13	66.3	
Immunoglobulin		2			
IgG1			5.5–6.8	162	
IgG2			7.5–8.3	152	
IgA			—	400 <sup>c</sup>	
IgM			—	950 <sup>d</sup>	
FSC(s) <sup>i</sup>				80	
Proteose-Peptide		4	3.3–3.7	4–41	

<sup>a</sup> As % of skim milk total protein, <sup>b</sup> monomers, <sup>c</sup> dimer, <sup>d</sup> pentamer, <sup>e</sup> isoelectric point, <sup>f</sup> Variant B, <sup>g</sup> Variant A, <sup>h</sup> Variant A<sup>2</sup>, <sup>i</sup> Free secretory component



# COMPOSIZIONE - Sostanze azotate

U2

Principali caratteristiche dei costituenti maggiori delle caseine di vacca



	caseina $\alpha$ 1	caseina $\alpha$ 2	caseina $\beta$	caseina $\kappa$	caseina $\gamma_1$
Proporzioni medie %	36	10	34	13	3
Massa molecolare	23600	25250	24000	19000 (pept.)	21000
N°residui aa	199	207	209	169	181
Fosforo % (atomi/mole)	1,10 (8)	1,23-1,60 (10-13)	0,56 (5)	0,20 (1)	0,16 (1)
Glucidi %	0	0	0	5	0
Cisteina (residui/mole)	0	2	0	2	0
Prolina	17	10	35	20	34
Sensibilità al calcio	++	+++	+	0	
Sensibilità alla chimosina	+	-	+	+++	?
pH isoelettrico	4,89	4,64	5,66	5,30	-
Gruppi acidi	48	49-55	31	18	16
Gruppi basici	25	33	20	17	16

## Caseine $\alpha$ s1

- Sono proteine calcio-sensibili e sono caratterizzate da una maggiore insolubilità in presenza di calcio.
- La variante genetica B della caseina  $\alpha$ s1 è costituita da 199 aa ed ha un peso molecolare di 23 kDa.
- È una proteina altamente fosforilata che contiene 8 residui di P-Ser, sette dei quali sono localizzati nelle posizioni 43-80 le quali portano anche ulteriori 12 gruppi carbossilici costituendo una zona ad elevata polarità/acidità per la molecola.
- La variante A della caseina è priva dei residui 14-26
- La variante C ha un residuo di Gly-192 (perdita Glu)
- La variante D ha un residuo di P-Tre-53 (perdita Ala)
- L'idrolisi della caseina  $\alpha$ s1 porta alla formazione della **caseina  $\lambda$**

## Caseine $\alpha$ s2

- Le caseine del **gruppo  $\alpha$ s2** sono un gruppo più disomogeneo rispetto alle caseine  $\alpha$ s1 ( $\alpha$ s3,  $\alpha$ s4,  $\alpha$ s5,  $\alpha$ s6).
- La caseina  $\alpha$ s2 consiste di 207 aa con una pronunciata struttura dipolare con gruppi anionici nella regione N-terminale e cationici nella C-terminale.
- Contiene 11 gruppi di P-Ser e due residui Cys e per questa ragione ha una tendenza a precipitare in presenza di ioni calcio più elevata delle caseine  $\alpha$ s1.



# COMPOSIZIONE - Sostanze azotate

U2

## Le Caseine $\beta$

La variante A<sup>2</sup> è un peptide costituito da 209 aa con peso molecolare di 24.0 kDa. Presenta 5 residui di P-Ser nella sequenza 1-40, mentre le posizioni 136-209 contengono soltanto residui aa con catene laterali idrofobiche.

Il numero dei siti di fosforilazione e il livello di fosforilazione sono inferiori a quelli osservati per le  $\alpha$ 1-caseine e per le  $\alpha$ 2 -caseine. La  $\beta$ -caseina bovina esiste in una forma completamente fosforilata, che contiene 5 fosfati/mol di proteine, mentre nel latte di altre specie (uomo, capre e opossum) la  $\beta$ -caseina ha siti di fosforilazione multipli.

La caseina b è la più idrofobica delle caseine, con una struttura del tipo testa-polare e coda-apolare con un 9% della struttura organizzato in struttura secondaria del tipo  $\alpha$ -elica ed un 25% di b-foglietto pieghettato.

Essa non contiene residui di Cys (come la caseina  $\alpha$ 1) e precipita in presenza di ioni  $\text{Ca}^{++}$  alle concentrazioni tipiche del latte.

**L'idrolisi della caseina b porta alla formazione delle caseine g1 - g2 - g3 per rottura rispettivamente dei residui 1-28, 1-105, 1-107**



# COMPOSIZIONE - Sostanze azotate

U2

## Le caseine k

- ✓ La variante B della caseina k consiste di 169 residui aa ed ha un peso molecolare di 18 kDa. Il monomero contiene 1 residuo di P-Ser e 2 Cys. Essa è normalmente presente sotto forma di trimero, o di oligomero stabilizzati dalla formazione di legami a ponte disolfuro.
- ✓ La proteina contiene residui di carboidrati (1% galattosio, 1.2% di galattosamina, 2.4% acido N-acetil neuramminico) legati rispettivamente alle posizioni Thr-131, 133, 135 (136 nella variante A)
- ✓ La caseina k se sottoposta a separazione elettroforetica si suddivide in varie componenti con la stessa composizione aa ma con differenti sostituenti carboidrati.

# COMPOSIZIONE - Sostanze azotate

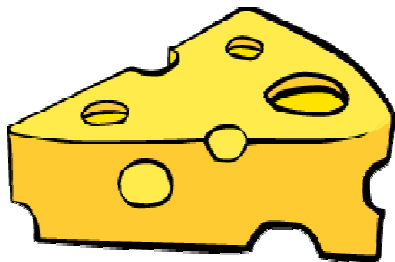
U2



## Le caseine K

La  $\kappa$ -caseina è la sola caseina che è solubile in presenza di ioni di calcio

L'aggregazione di caseina as1 e caseina b con la caseina k previene la precipitazione delle prime due proteine in presenza di ioni  $\text{Ca}^{++}$  grazie alla formazione di strutture chiamate **micelle caseiniche** stabilizzate dalla caseina.



La  $\kappa$ -caseina è sensibile alla segmentazione in presenza di proteasi aspartato, chimosina (rennina). Jollès et al. hanno dimostrato che nella  $\kappa$ -caseina bovina la segmentazione si verifica in uno specifico legame Phe<sup>105</sup>-Met<sup>106</sup> nella porzione terminale-C. I prodotti di questa segmentazione sono un frammento molto caricato e glicosilato del terminale-C (chiamato macropeptide o glicomacropoteina) e il peptide idrofobo del terminale-N, la para  $\kappa$ -caseina.

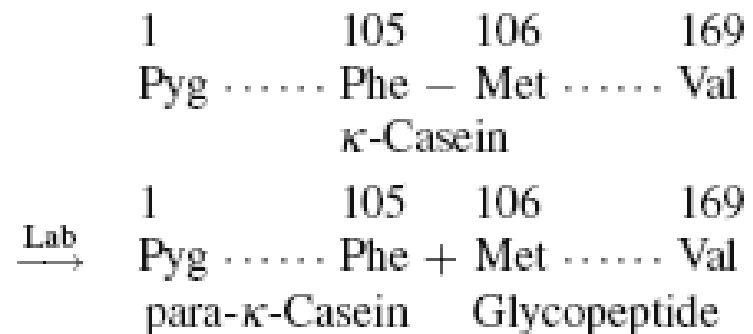
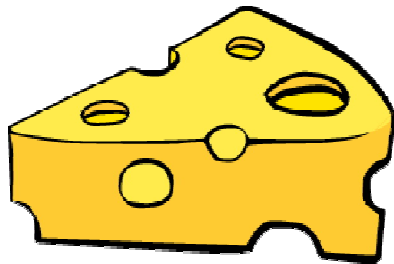
# COMPOSIZIONE - Sostanze azotate

U2



## Le caseine K

Il frammento glicosilato del terminale-C (chiamato macropeptide o glicomacroproteina) è dotato di elevata solubilità mentre la para  $\kappa$ -caseina, in presenza di  $\text{Ca}^{2+}$  tende a precipitare. La para  $\kappa$ -caseina, le micelle destabilizzate per perdita della frazione di caseina  $\kappa$ , i complessi di caseine andranno incontro a coagulazione e formeranno la cosiddetta “cagliata”.





# COMPOSIZIONE - Sostanze azotate

U2

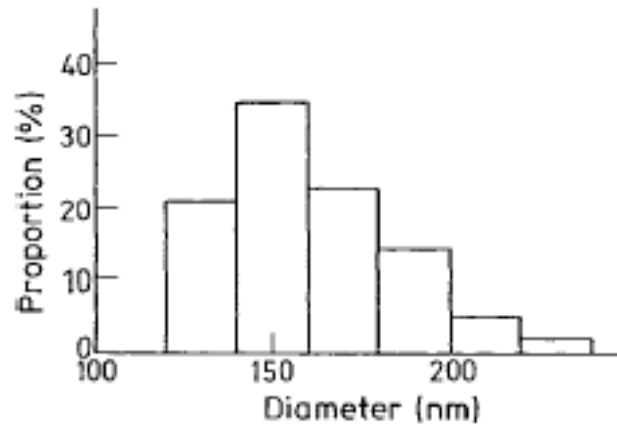
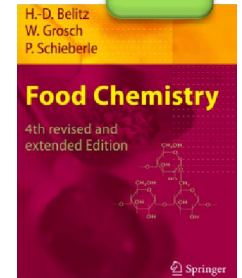


Fig. 10.4. Particle size distribution of casein micelles in skim milk (fixation with glutaraldehyde)

Table 10.12. Composition of casein micelles (%)

Casein	93.2	Phosphate	
Ca	2.9	(organic)	2.3
Mg	0.1	Phosphate	
Na	0.1	(inorganic)	2.9
K	0.3	Citrate	0.4

Table 10.13. Typical distribution of components in casein micelles

Component	Ratio numbers			
$\alpha_{s1}$	3	6	9	12
$\beta$	1	1	4	4
$\gamma$		1	1	1
$\kappa$	1	3	3	3

Solo il 10% della frazione totale di caseine si trova in forma monomerica nel latte. Vista la loro scarsa solubilità nel mezzo, tendono a formare degli aggregati: **complessi e micelle**.

La formazione di aggregati prima e di micelle, in seconda battuta, avviene in presenza di altri costituenti.

In particolare essa è funzione del pH, della concentrazione degli ioni  $\text{Ca}^{2+}$ , dei  $\text{PO}_4^{2-}$ , del citrato e della temperatura.

Le dimensioni delle micelle variano tra i 100 ed i 250 nm ed hanno una composizione chimica media riportata in tabella.

# COMPOSIZIONE - Sostanze azotate

U2

## MICELLE CASEINICHE

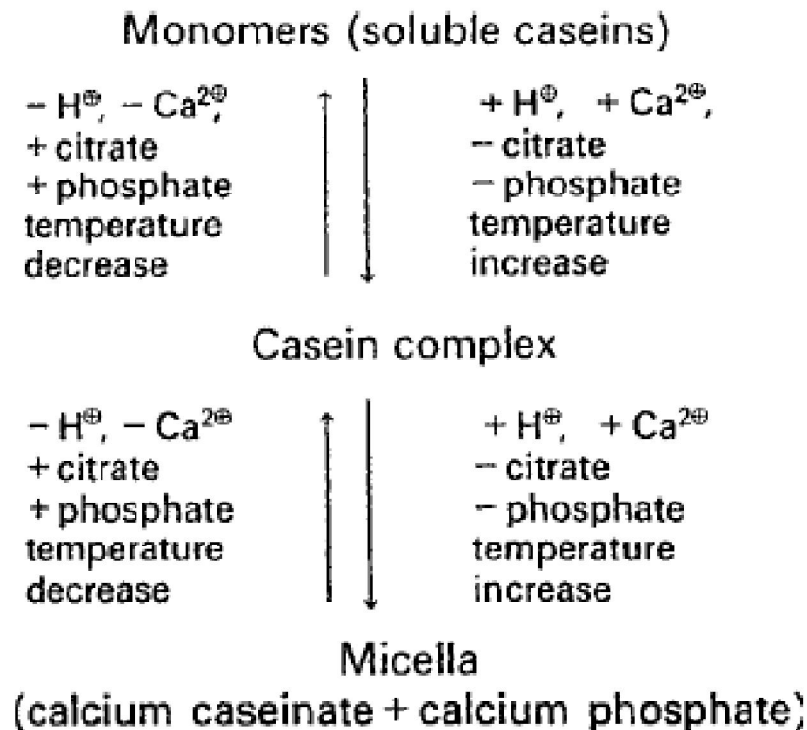


Fig. 10.3. Casein complex and casein micelle formation

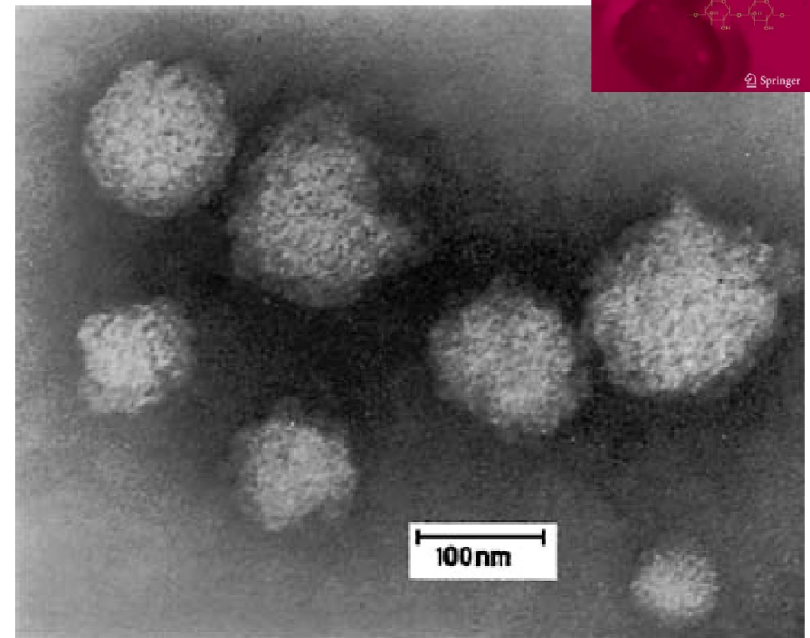
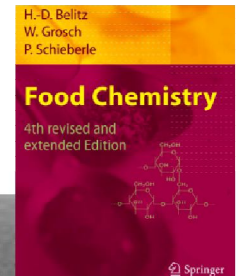


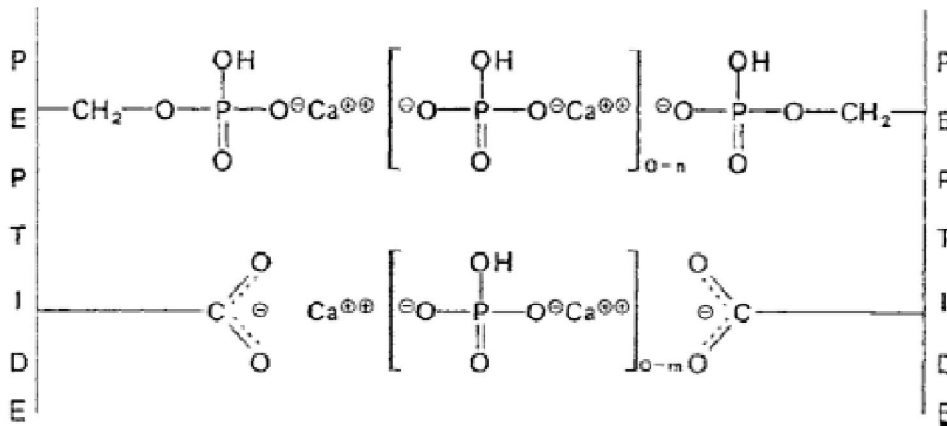
Fig. 10.5. Electron micrograph of the casein micelles in skim milk (according to Webb, 1974). The micelles are fixed with glutaraldehyde and then stained with phosphomolybdic acid



# COMPOSIZIONE - Sostanze azotate

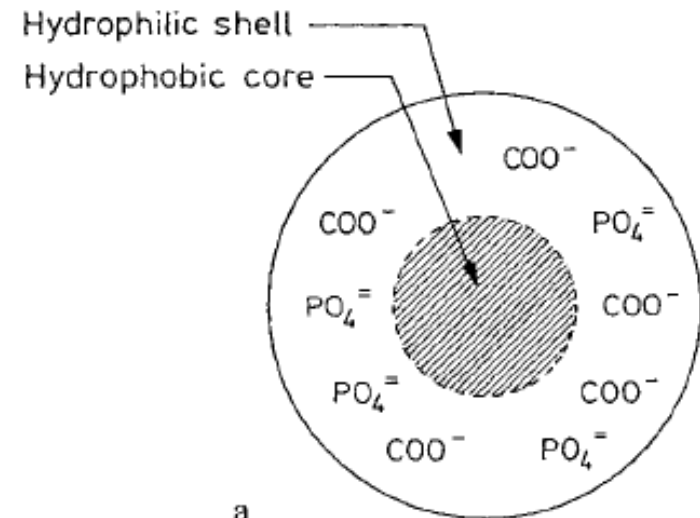
U2

## MICELLE CASEINICHE

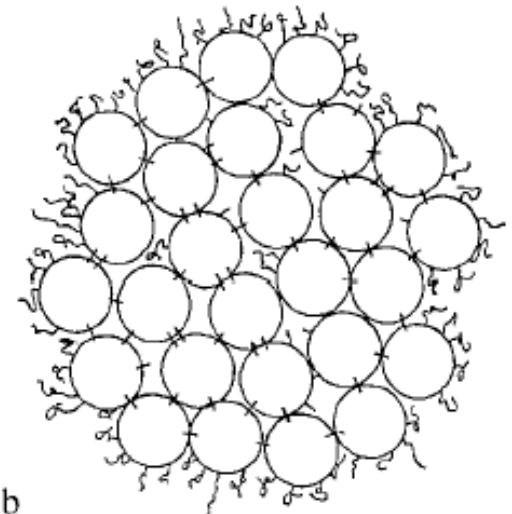


I monomeri caseinici si stabilizzano mediante differenti tipi di interazione secondaria:

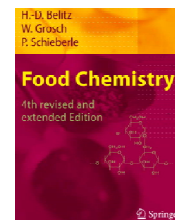
- ✓ interazioni idrofobiche,
- ✓ interazioni elettrostatiche tra  $\text{Ca}^{2+}$  e  $\text{PO}_4^{2-}$  con i residui di P-Ser e Glu,
- ✓ interazione a ponte idrogeno.



a



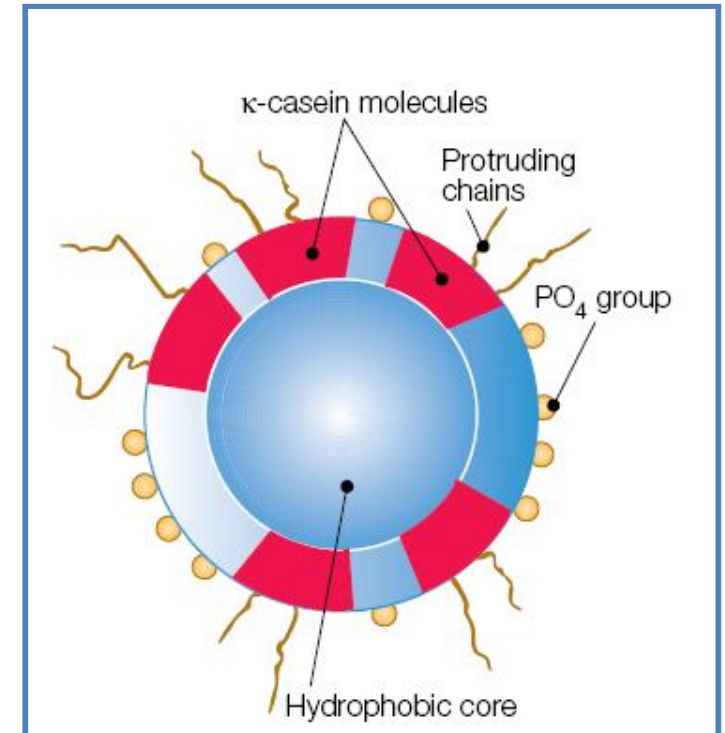
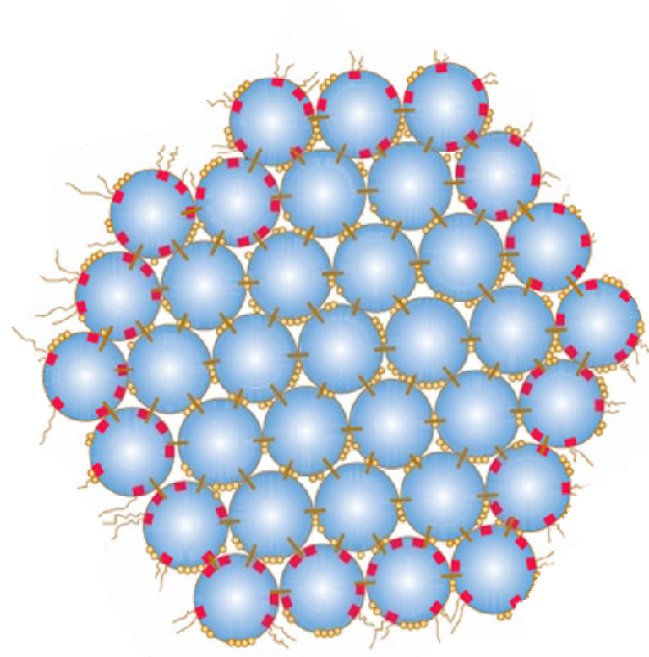
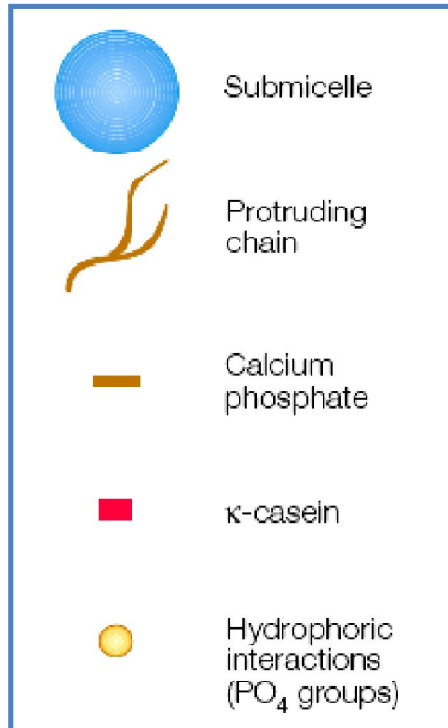
b



- Submicelle
- ~ Protruding chain
- Calcium phosphate

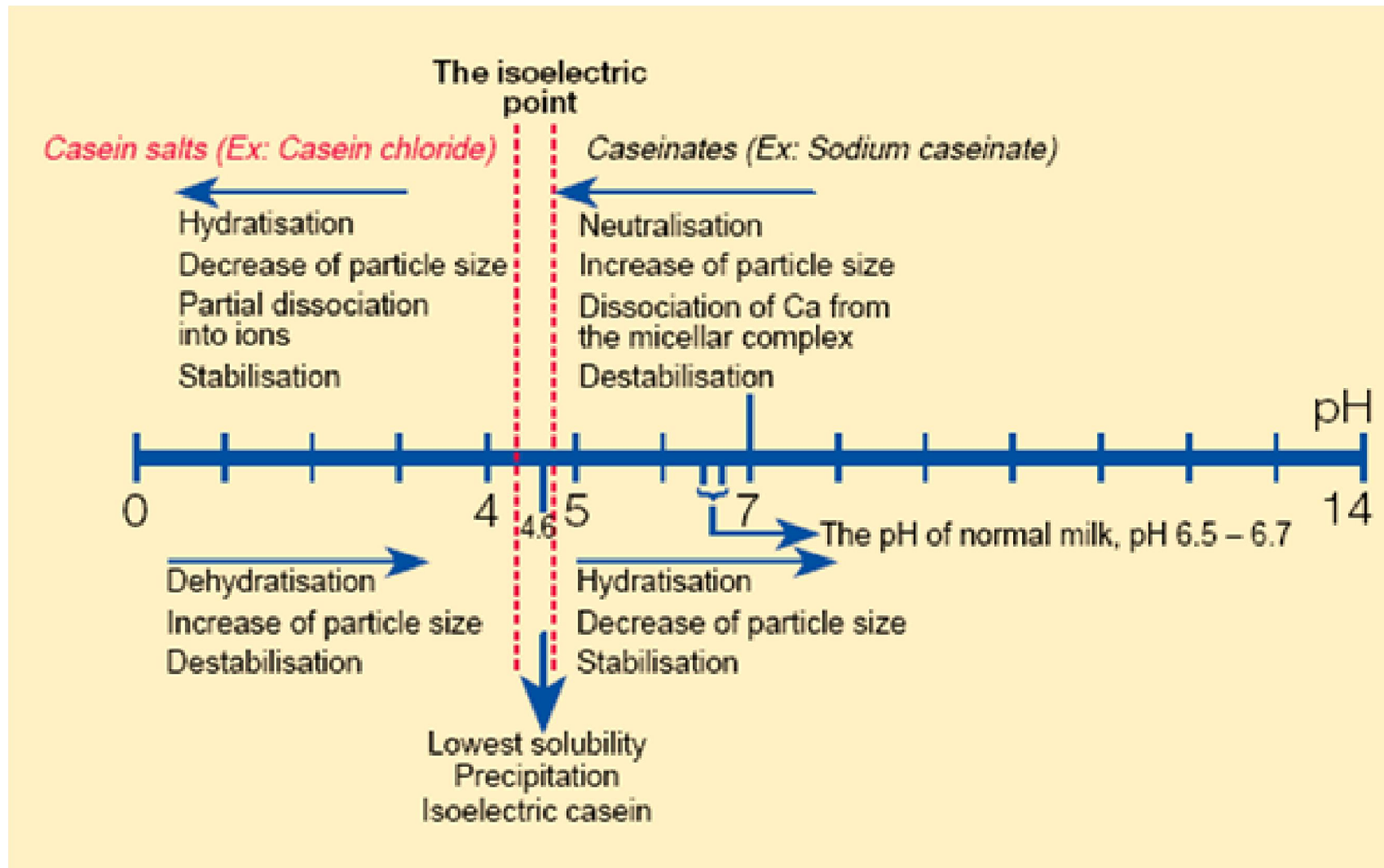
# COMPOSIZIONE - Sostanze azotate

U2



# COMPOSIZIONE - Sostanze azotate

U2



# COMPOSIZIONE - Sostanze azotate

U2

## Micella caseinica

*Caseine (as1, as2, b, k ecc.)*

*Sostanze minerali (Ca, Mg, Na, K, fosfati, citrati)*

*Acqua*

*Enzimi (lipasi)*

## Siero

*Acqua*

*Carboidrati (lattosio, glucosio, oligosaccaridi, altri)*

*Sostanza minerali (Ca, Mg, K, Na, fosfati, citrati, cloruri, solfati, bicarbonati)*

*Gas (ossigeno, azoto)*

*Lipidi*

*Acidi organici (citrico, formico, acetico, lattico, ossalico)*

*Elementi in tracce (Zn, Fe, Cu, Si, B, I, Pb, Co, Mn, Sr, Cs, F ecc.)*

*Proteine (caseine, a-lattalbumina, b-lattoglobulina, sieroalbumina, immunoglobuline)*

*Composti azotati (peptidi, amminoacidi, urea, ammoniaca ecc.)*

*Enzimi (fosfatasi alcalina, perossidasi ecc.)*

*Pigmenti coloranti (carotenoidi, lattoflavina)*

*Vitamine (A, D, E, K, C, B, PP, )*

## Sieroproteine

Le siero-proteine non sono aggregati proteici ma si trovano nel latte come monomeri o polimeri che precipitano per riscaldamento o per aumento della forza ionica.

Non sono sensibili agli enzimi coagulanti.

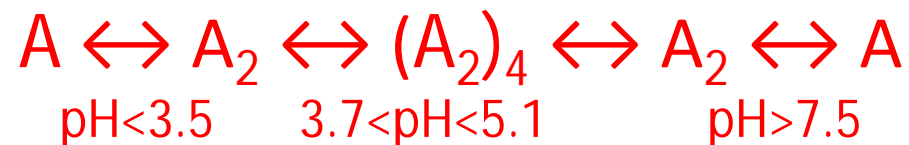
Sono costituite da:

- b-lattoglobulina : la più importante (2-3 g/L)
- a-lattalbumina : 1-1.5 g/L
- sieroalbumina : 0.3 g/L
- immunoglobuline : 0.5 g/L; importanti la IgG1, la IgG2, la IgA, la IgM
- proteoso-peptoni : molti composti
- lattoferrina
- transferrina
- ceruloplasmina



## $\beta$ -Lattoglobulina

La b-lattoglobulina è presente in almeno quattro varianti genetiche: A, B, C, e D. Il monomero è costituito da 162 aa, ha un peso molecolare di 18 kda ed ha una tendenza a formare aggregati oligomerici che sono funzione del pH del mezzo.



A valori di pH maggiori di 8.6 si ha denaturazione irreversibile, come anche per riscaldamento o per presenza di alte concentrazioni di ioni  $\text{Ca}^{++}$ .

La b-lattoglobulina presenta 5 residui Cys parzialmente protetti dalla struttura secondaria e terziaria globulare. L'esposizione dei gruppi -SH induce la formazione di legami disolfuro e di aggregati con la caseina k e la a-lattolabumina tipici del latte termizzato.



## $\alpha$ -Lattoalbumina

La  $\alpha$ -lattoglobulina è presente in almeno due varianti genetiche: A e B.

La  $\alpha$ -lattoglobulina presenta 8 residui Cys, la formazione di legami disolfuro e l'interazione con gli ioni  $\text{Ca}^{++}$  partecipano alla stabilizzazione della sua struttura terziaria.

Essa ha una sua propria funzione biologica in qualità di subunità-B dell'enzima lattosio sintetasi .

## Enzimi

Gli enzimi presenti nel latte hanno prevalentemente origine endogena, sebbene molti di quelli esogeni (derivazione batterica-microflora) abbiano un ruolo tecnologico molto importante.

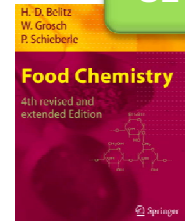
I principali sono classificati come idrolasi (amilasi, lipasi, esterasi, proteinasi e fosfatasi), seguiti dalle ossidoreduttasi (aldeide deidrogenasi, lattoperossidasi e catalasi).

Table 10.24. Enzymes in bovine milk

EC Number	Name	Localization <sup>a</sup>
1.1.1.27	L-Lactate dehydrogenase	P
1.1.1.37	Malate dehydrogenase	
1.1.3.22	Xanthine oxidase	F
1.4.3.6	Amine oxidase (copper-containing)	
1.6.99.3	NADH dehydrogenase	F
1.8	Sulfhydryl oxidase <sup>b</sup>	S
1.8.1.4	Dihydrolipoamide dehydrogenase	F
1.11.1.6	Catalase	L
1.11.1.7	Lactoperoxidase	S
1.15.1.1	Superoxide dismutase	
2.3.2.2	$\gamma$ -Glutamyltransferase	F
2.4.1.22	Lactose synthase	S
2.4.99.1	$\beta$ -Galactoside- $\alpha$ -2,6- sialyltransferase	
2.6.1.1	Aspartate aminotransferase	P
2.6.1.2	Alanine aminotransferase	
2.7.1.26	Riboflavin kinase	
2.7.1.30	Glycerol kinase	
2.7.7.2	FMN adenyl transferase	
2.8.1.1	Thiosulfate sulfurtransferase	
3.1.1.1	Carboxylesterase	S

# COMPOSIZIONE

U2



## Enzimi

- **Catalasi:** è un enzima ossidante che catalizza la formazione di ossigeno molecolare a partire da  $H_2O_2$ ; è molto abbondante nel colostro e nel latte mastitico.
- **Lattoperossidasi:** è l'enzima più abbondante ed aumenta nei latti mastitici; viene inattivata a 80 °C per 30 secondi e la sua presenza in un latte pastorizzato è indice di trattamento a bassa temperatura.
- **Lipasi:** idrolizza i trigliceridi liberando acidi grassi.
- **Fosfatasi alcalina:** importante la sua termolabilità (72 °C per 16 secondi).

3.1.1.2	Arylesterase	
3.1.1.7	Acetylcholine esterase	F
3.1.1.8	Choline esterase	S
3.1.1.34	Lipoproteinlipase	C
3.1.3.1	Alkaline phosphatase	F
3.1.3.2	Acid phosphatase	F
3.1.3.5	5'-Nucleotidase	F
3.1.3.9	Glucose-6-phosphatase	F
3.1.3.16	Phosphoprotein phosphatase	P
3.1.4.1	Phosphodiesterase I	F
3.1.27.5	Pancreatic ribonuclease	S
3.2.1.1	$\alpha$ -Amylase	S
3.2.1.2	$\beta$ -Amylase	
3.2.1.17	Lysozyme	S
3.2.1.24	$\alpha$ -Mannosidase	
3.2.1.31	$\beta$ -Glucuronidase	
3.2.1.52	$\beta$ -N-Acetylglucosaminidase	
3.4	Acid peptidases	
3.4.21.7	Plasmin	C
3.6.1.3	Adenosinetriphosphatase	F
3.6.1.9	Nucleotide pyrophosphatase	
4.1.2.13	Fructosebiphosphate aldolase	
5.3.1.9	Glucose-6-phosphate isomerase	

<sup>a</sup> C: casein micelle, F: fat-globule membrane, L: leucocytes, P: plasma, S: serum.

<sup>b</sup> Not thiol oxidase EC 1.8.3.2.

# COMPOSIZIONE - Sostanze azotate

U2

## Enzimi

Termolabili (disattivazione inferiore a 60 °C/30')	
Aldolasi	45/30'
$\alpha$ -amilasi	50/30'
Lipasi	55/30'
Termostabili (disattivazione superiore a 60 °C/30')	
Fosfatasi alcalina	62/30' (72/15")
Catalasi	70/30'
Perossidasi	70/30' (80/15")
Proteasi (plasmina)	70/30'
Xantina-ossidasi	70/30'
Termoresistenti (disattivazione superiore a 90 °C)	
Fosfatasi acida	
Ribonucleasi	
Lisozima	

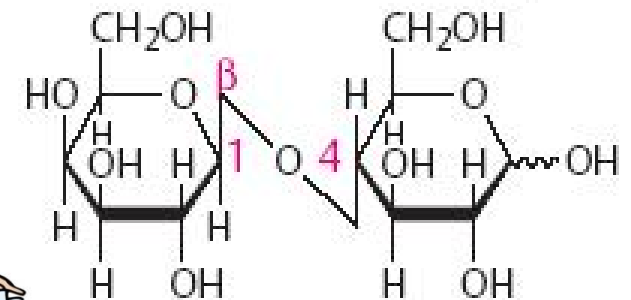
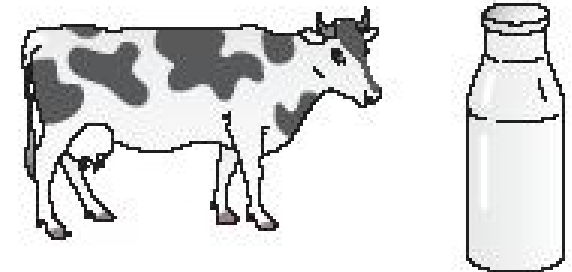
# COMPOSIZIONE - Glucidi

U2

## Lattosio

Il principale carboidrato del latte ed in natura è sintetizzato solo nella ghiandola mammaria.

Ha un potere edulcorante minore di glucosio, fruttosio e saccarosio; nei latti delattosati (trattati con la  $\beta$ -1,4-galattosidasi) la nota dolce risulta aumentata per effetto della lisi del lattosio a glucosio e galattosio.

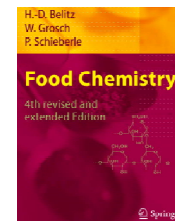


2. Lactose  
 $\beta$ -D-Galactopyranosyl-  
(1 $\rightarrow$ 4)-D-glucopyranose

Table 10.16. Relative sweetness of saccharose, glucose, fructose and lactose<sup>a</sup>

Saccharose	Glucose	Fructose	Lactose
0.5	0.9	0.4	1.9
5.0	8.3	4.2	15.7
10.0	12.7	8.7	20.7
20.0	21.8	16.7	33.3

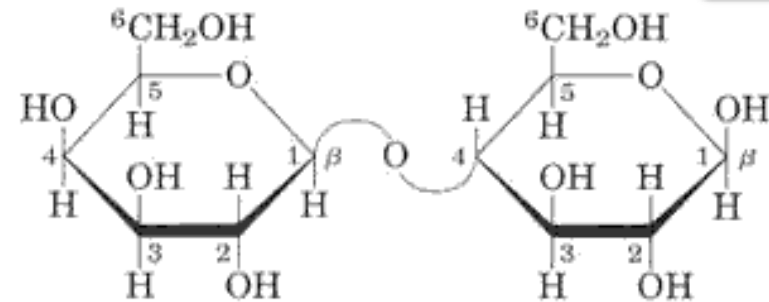
<sup>a</sup> Results are expressed as concentration % for isosweet aqueous sugar solutions.



# COMPOSIZIONE - Glucidi

U2

## Lattosio



Il vantaggio del lattosio rispetto ad un monosaccaride, quale ad esempio il glucosio, è che esso ha un contenuto energetico doppio ed esercita la metà della pressione osmotica di un monosaccaride a parità di peso molecolare.

Nella ghiandola mammaria dei ruminanti il glucosio deriva dal circolo ematico al 65-75 %.

- E' la base della fermentazione lattica da parte dei batteri lattici
    - *Mesofili* (20-30 °C)
    - *Termofili* (37-47 °C)
    - *Omofermentanti* (acido lattico)
    - *Eterofermentanti* (acido lattico, acido acetico, anidride carbonica)
  - Da 1 g di lattosio --> 0.95 g acido lattico
  - Da reazione di Maillard --> melanoidine --> imbrunimento
  - Può isomerizzarsi a lattulosio (glucosio + fruttosio) per trattamento termico
- indice trattamento termico, presente solo in latti UHT e sterili

# COMPOSIZIONE - Glucidi

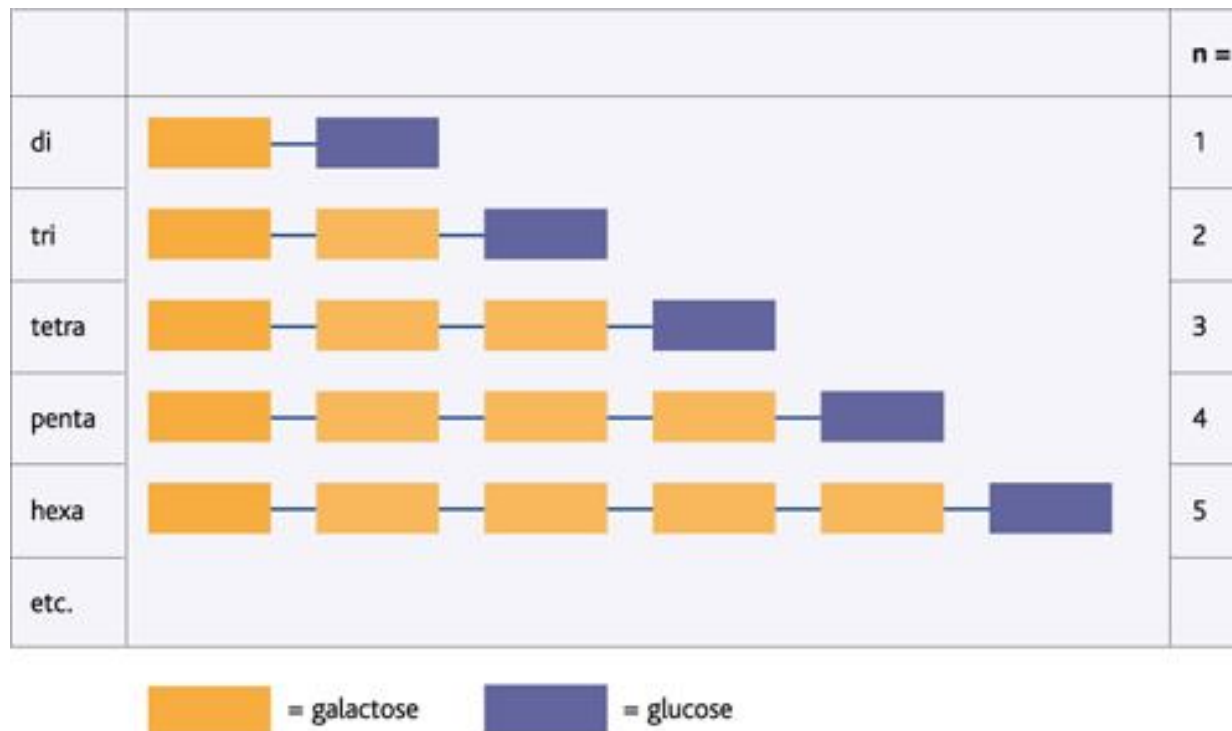
U2

## Altri Glucidi

Nel latte sono presenti anche oligosaccaridi (max 10 monosaccaridi)

Considerati pre-biotici: **GOS Galacto oligo saccaridi**

Hanno attività biologica (immunostimolante, antiinfiammatoria, antivirale)

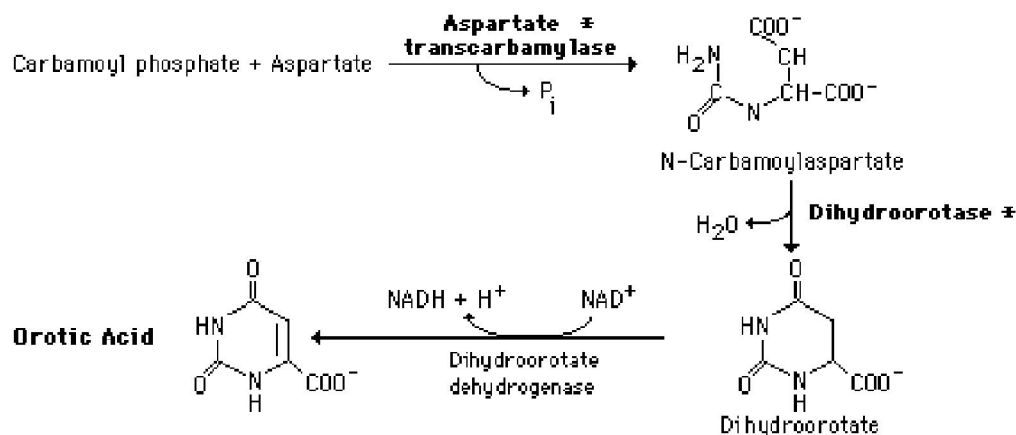


# COMPOSIZIONE - Acidi Organici

U2

## Acidi Organici

L'acido citrico è l'acido organico predominante nel latte



$\neq$  Part of the same multi-functional protein

L'acido lattico e l'acido acetico sono prodotti della fermentazione del lattosio

L'acido orotico, intermedio della biosintesi dei nucleotidi pirimidinici, è un acido organico peculiare del latte ed insieme alla creatinina totale ed all'acido urico possono diventare ottimi indicatori di presenza di latte e/o derivati in un prodotto alimentare.



# IL LATTE AL CONSUMO

U3

I prodotti forniti al consumatore in cui il latte viene fornito per quanto possibile integro nelle sue caratteristiche compositive ed organolettiche, od al massimo privato di una parte più o meno elevata di acqua per ridurne le spese di trasporto e/o facilitarne la conservazione sono:

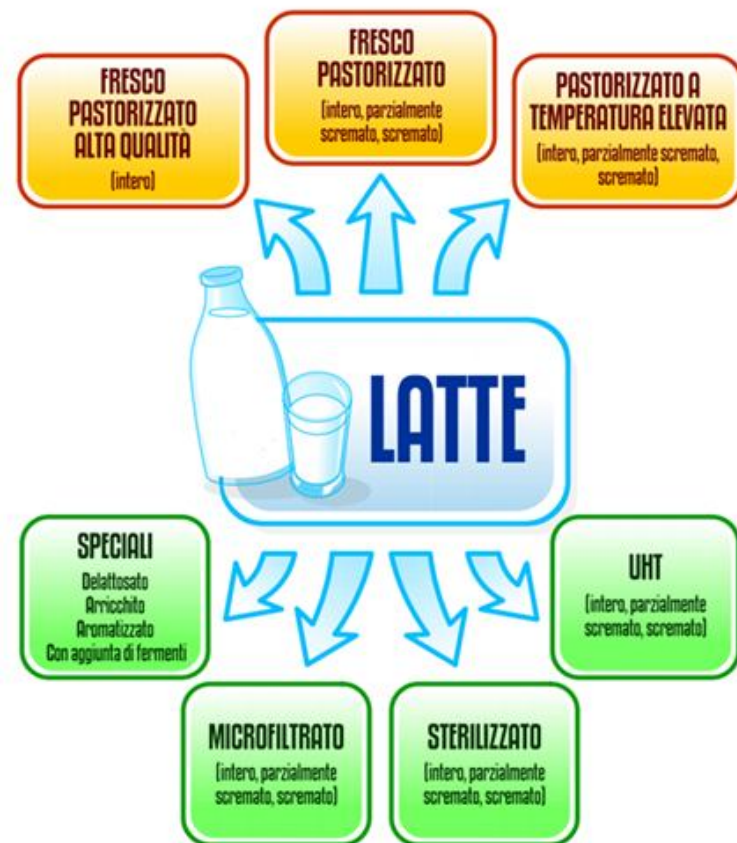
Latte crudo

Latte pastorizzato

Latte microfiltrato

Latte sterilizzato

- Sterilizzato
- UHT



**R.D. 9 maggio 1929 n° 994:**

“Per latte deve intendersi il prodotto ottenuto dalla mungitura regolare, ininterrotta e completa della mammella di animali in buono stato di salute e di nutrizione. Con la sola parola ‘latte’ deve intendersi il latte proveniente dalla vacca. Il latte di altri animali deve portare la denominazione della specie cui appartiene l’animale che lo fornisce”

**Reg. CE 853/04 :**

“latte crudo : il latte prodotto mediante secrezione della ghiandola mammaria di animali di allevamento che non è stato riscaldato a più di 40 °C e non è stato sottoposto ad alcun trattamento avente un effetto equivalente”

## Reg. CE 2597/97 Articolo 3

1. I seguenti prodotti sono considerati latte alimentare:

a) **latte crudo**: latte non sottoposto ad una temperatura superiore a 40 °C né ad un trattamento avente un effetto equivalente;

b) **latte intero**: latte sottoposto a trattamento termico e che, per quanto riguarda il tenore di materia grassa, è conforme ad una delle seguenti formule:

- latte intero normalizzato: latte il cui tenore di materia grassa corrisponde almeno al 3,50 % (m/m); tuttavia, gli Stati membri possono prevedere una categoria supplementare di latte intero, il cui tenore di materia grassa sia superiore o uguale al 4,00 % (m/m);

- latte intero non normalizzato: latte il cui tenore di materia grassa non è stato modificato, dopo la mungitura, mediante aggiunta o prelievo di materia grassa del latte oppure mediante miscelazione con latte il cui tenore naturale di materia grassa è stato modificato; il tenore di materia grassa non può comunque essere inferiore al 3,50 % (m/m);

c) **latte parzialmente scremato**: latte sottoposto a trattamento termico e il cui tenore di materia grassa è stato portato ad un tasso compreso tra un minimo dell'1,50 % (m/m) ed un massimo dell'1,80 % (m/m);

d) **latte scremato**: latte sottoposto a trattamento termico e il cui tenore di materia grassa è stato portato ad un tasso massimo dello 0,50 % (m/m).

## **Articolo 4 (modif. dal Reg. CE 1602/99)**

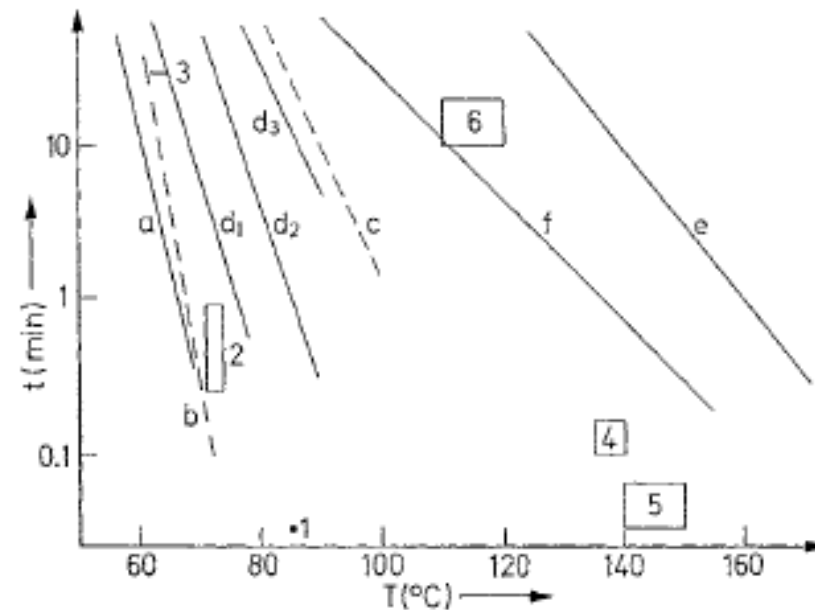
Il latte alimentare deve soddisfare i seguenti requisiti:

- a) avere un punto di congelazione che si avvicini al punto di congelazione medio constatato per il latte crudo nella zona di origine della raccolta;
- b) avere una massa superiore o uguale a 1.028 grammi per cm<sup>2</sup>, rilevata su latte con 3,5 % (m/m) di materia grassa e a una temperatura di 20 °C o l'equivalente per litro per il latte con tenore di materia grassa diverso;
- c) contenere almeno il 2,9 % (m/m) di materie proteiche, rilevato su latte con il 3,5 % (m/m) di materia grassa o una concentrazione equivalente per il latte con tenore di materia grassa diverso;

Latte in commercio

- ✓ Crudo
- ✓ Trattato Termicamente
  - Pastorizzato
  - Pastorizzato ad alta temperatura
  - Fresco pastorizzato
  - Fresco pastorizzato di alta qualità
  - Sterilizzato
  - UHT
- ✓ Latte Microfiltrato

# TRATTAMENTI TERMICI DEL LATTE



**Fig. 10.15.** Heating of milk. 1–3 Pasteurization: 1 high temperature treatment, 2 short time and 3 long time heat treatment; 4 and 5 UHT treatment: 4 indirect and 5 direct; 6 sterilization. *a*: Killing pathogenic microorganisms (*Tubercle bacilli* as labelling organism), *b/c*: inactivation of alkaline/acid phosphatase. *d*<sub>1</sub>, *d*<sub>2</sub>, *d*<sub>3</sub> denaturation (5, 40, 100%) of whey proteins. *e*: casein heat coagulation, *f*: start of milk browning

# TRATTAMENTI TERMICI DEL LATTE

U3

- ❖ latte crudo - nessun trattamento termico di riscaldamento superiore a 40 °C prima dell'uso;
- ❖ latte termizzato -  $T > 57\text{ °C}$  ma  $< 68\text{ °C} * 15''$  o combinazioni tempo/temperatura equivalenti con fosfatasi positiva;
- ❖ latte pastorizzato –  $T > 63\text{ °C} * 30s$  (pastorizzazione bassa) o  $T > 71.7\text{ °C} * 15,5s$  (pastorizzazione alta o HTST) con fosfatasi negativa;
- ❖ pastorizzazione flash –  $T > 80\text{ °C} * \text{alcuni secondi}$  con fosfatasi negativa e perossidasi negativa o positiva;
- ❖ sterilizzazione UHT –  $T > 135\text{ °C} * 1''$  con fosfatasi e perossidasi negative;
- ❖ sterilizzazione in bottiglia –  $T > 120\text{ °C} * 15''$  con fosfatasi e perossidasi negative.

# TRATTAMENTI TERMICI DEL LATTE

U3

**(L169/89)**

I trattamenti termici ammessi per il latte alimentare destinato al consumo umano diretto sono:

**pastorizzazione:** trattamento termico in flusso continuo per almeno 15 secondi a temperatura inferiore al punto di ebollizione ma superiore a 72 gradi centigradi ovvero per tempi e temperatura integranti una equivalente quantità di calore, idoneo ad assicurare la distruzione di tutti i microrganismi patogeni e di parte rilevante della flora microbica saprofita, con limitate alterazioni delle caratteristiche chimiche, fisiche e organolettiche;

**sterilizzazione:** trattamento termico idoneo ad assicurare la distruzione di tutti i microrganismi presenti nel latte o che ne impedisca definitivamente la proliferazione.



# TRATTAMENTI TERMICI DEL LATTE

U3

**(DPR 54/97)**

## **LATTE PASTORIZZATO**

Il trattamento di pastorizzazione prevede un contenuto di sieroproteine non inferiore all'11 % delle proteine totali.

Un'altra tecnica consente al latte pastorizzato una conservazione di 10 giorni; si tratta dell'**Alta Pastorizzazione**, una tecnica che riscalda il latte a 115 °C per 1 s.

## **LATTE FRESCO**

La denominazione di "latte fresco" è prevista dalla legge italiana 169/89 come categoria specifica nell'ambito del latte pastorizzato.

I requisiti fondamentali che vengono specificati della legge per denominare il prodotto "latte fresco" sono:

1. materia prima rispondente al DPR 54
2. un solo trattamento termico di pastorizzazione entro 48 h dalla raccolta ad una temperatura compresa fra 72° e 80° per un tempo inferiore a 15" per tutta la materia costituente il latte (parte magra e parte grassa).
3. la presenza nel prodotto finale delle seguenti caratteristiche:
  - perossidasi positiva
  - fosfatasi negativa
  - presenza di sieroproteine solubili almeno al 14%.

# TRATTAMENTI TERMICI DEL LATTE

U3

La legge definisce anche il “latte fresco di alta qualità” imponendo ulteriori requisiti:

- caratteristiche di qualità per la materia prima;
- qualificazione dell'allevamento da parte dell'ASL (caratteristiche del prodotto e requisiti igienico-sanitari).

Quindi un latte può essere denominato “fresco pastorizzato” se rispetta i requisiti di prodotto e di processo indicati dalla legge 169/89.

Prodotti che rispettano la normativa europea, ma non la 169/89, potranno utilizzare la denominazione europea di “latte pastorizzato” o “latte pastorizzato ad elevata temperatura”.

# TRATTAMENTI TERMICI DEL LATTE

U3

**(DPR 54/97)**

## **LATTE FRESCO PASTORIZZATO**

Prevede un solo trattamento termico entro le 48 ore dalla mungitura e deve prevedere un contenuto di sieroproteine non inferiore al 14 %.

## **LATTE FRESCO PASTORIZZATO DI ALTA QUALITA'**

Deve avere un contenuto di sieroproteine non inferiore al 15,50%.

## **LATTE STERILIZZATO**

Viene definito “**a lunga conservazione**” quando ha subito un trattamento termico finale di sterilizzazione in contenitore sigillato.

La data di scadenza non può superare i 180 giorni dal confezionamento.

Viene definito “**UHT a lunga conservazione**” quando è trattato a ultra alta temperatura, in flusso continuo seguito dal confezionamento asettico.

La data di conservazione non può superare i 90 giorni dal confezionamento.

# TRATTAMENTI DEL LATTE

## - microfiltrazione

U3

**DM MIPAF 17/6/2002**

- 1) Ai sensi del presente decreto si definisce **microfiltrazione** la tecnica di filtrazione condotta su elementi filtranti esenti da cessioni ed aventi pori con luce media da 1.2 a 2  $\mu\text{m}$  con applicazione di pressione transmembranaire comprese tra 1 e 1.2 bar.
- 2) Fatti salvi i requisiti previsti dalla normativa vigente per il latte crudo destinato alla fabbricazione di latte alimentare trattato termicamente, è autorizzato il trattamento della microfiltrazione nel corso del processo di produzione del latte alimentare definito dall'art.4 comma 1 della legge n. 169/89. Detto processo di produzione deve rispettare le previsioni ed i limiti della vigente normativa in materia di unico trattamento termico.

## - *Durabilita'*

- latte crudo : determinata direttamente dal produttore e non oltre il 3° giorno dalla messa a disposizione del consumatore.
- latte fresco pastorizzato, latte fresco pastorizzato alta qualità : 6° giorno successivo a quello di confezionamento.
- latte microfiltrato : determinata direttamente dal produttore (Circ. 169/04) ma massimo 10 giorni.
- latte pastorizzato ad alta temperatura : determinata direttamente dal produttore (L 109/92).
- latte proveniente da altri Stati : fissata dai produttori in conformità delle normative dei Paesi di origine.
- latte sterilizzato a lunga conservazione : precedentemente fissata a 180 giorni, ora a discrezione del produttore.
- latte UHT a lunga conservazione : precedentemente fissata a 90 giorni, ora a discrezione del produttore.

# MARKER di TRATTAMENTO TERMICO

U4

Indicatori di trattamento termico possono essere:

1. Sostanze termolabili (enzimi, sieroproteine) residue dopo il trattamento;
2. Sostanze e prodotti di neo-formazione

## 1. Sostanze termolabili (enzimi, sieroproteine) residue dopo il trattamento:

- *Enzimi: Fosfatasi alcalina e Lattoperossidasi*
- *Contenuto di sieroproteine solubili (non denaturate)*

# MARKER di TRATTAMENTO TERMICO

U4

## Enzimi: Fosfatasi alcalina e Lattoperossidasi

La **Fosfatasi alcalina** è utile per caratterizzare il binomio t/T proprio del trattamento termico che si vuole valutare;

La **Lattoperossidasi** viene inattivata quando sono superate le condizioni minime di processo, è utile per rilevare trattamenti termici “spinti”.

## Contenuto di sieroproteine solubili (non denaturate)

Il contenuto di **sieroproteine solubili** (non denaturate) è correlato al trattamento termico, si utilizza un metodo analitico specifico (HPLC) per la caratterizzazione quali e quantitativa del profilo specifico.

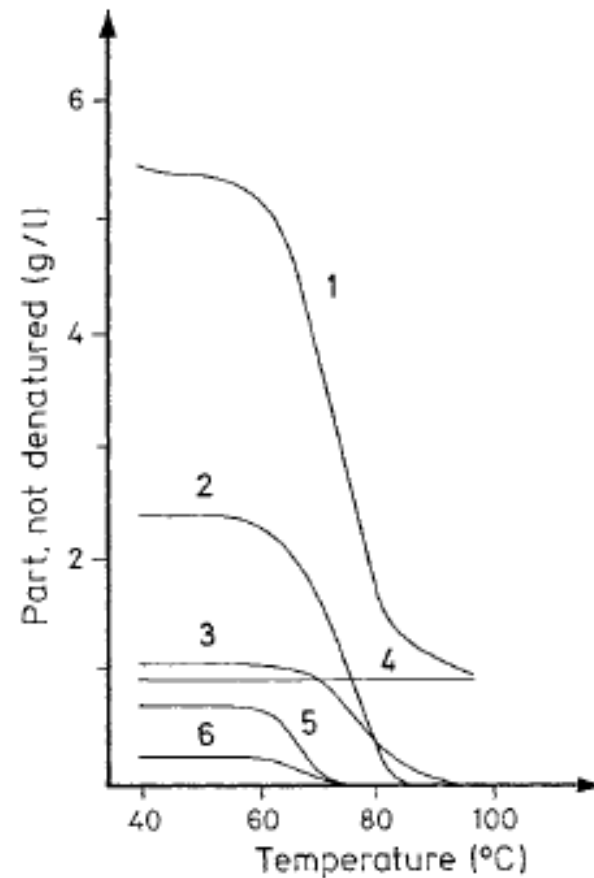
## Presenza di Lattulosio

Il lattulosio si forma principalmente in latti UHT o sterilizzati in bottiglia, la reazione di formazione è infatti caratterizzata da una elevata energia di attivazione.

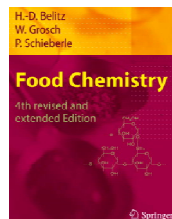
# MARKER di TRATTAMENTO TERMICO

U4

Contenuto di sieroproteine  
solubili (non denaturate)



**Fig. 10.17.** Denaturation of whey proteins by heating at various temperatures for 30 min. 1 Total whey protein, 2  $\beta$ -lactoglobulin, 3  $\alpha$ -lactalbumin, 4 proteose peptone, 5 immunoglobulin, 6 serum albumin



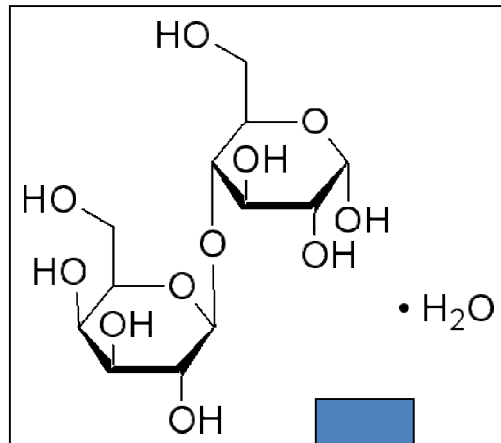


# MARKER di TRATTAMENTO TERMICO

U4

**Lattosio**

**4-O- $\beta$ -D-Galactopyranosyl- $\alpha$ -D-glucose**

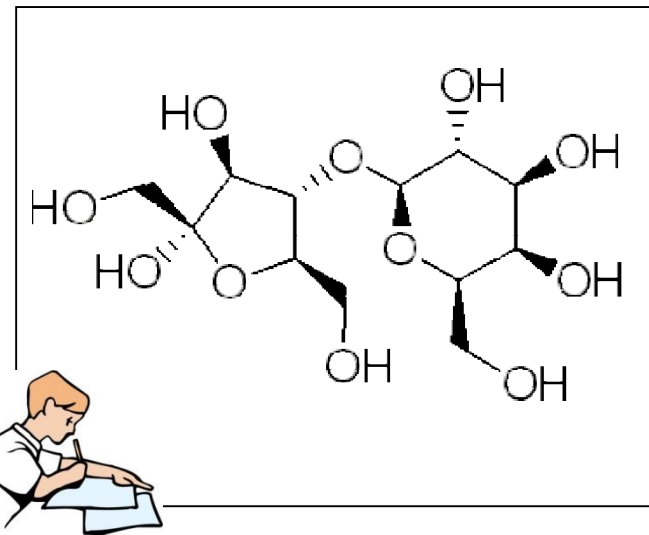


Isomerizzazione

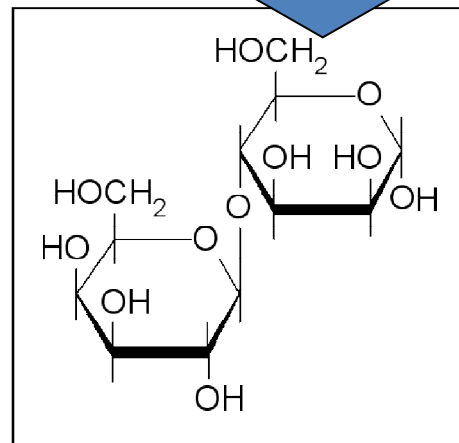
Temperatura

**Lattulosio**

**4-O- $\beta$ -D-Galactopyranosyl-D-fructose**



Epimerizzazione  
Temperatura



**Epi Lattosio**

**4-O- $\beta$ -Galactopyranosyl-D-mannopyranose**

2. Sostanze e prodotti di neo-formazione che si formano attraverso reazioni chimiche a meccanismo e stechiometria noti (importanti per rilevare trattamenti “energetici” propri della sterilizzazione).

## Reazioni di Maillard o di imbrunimento non enzimatico.

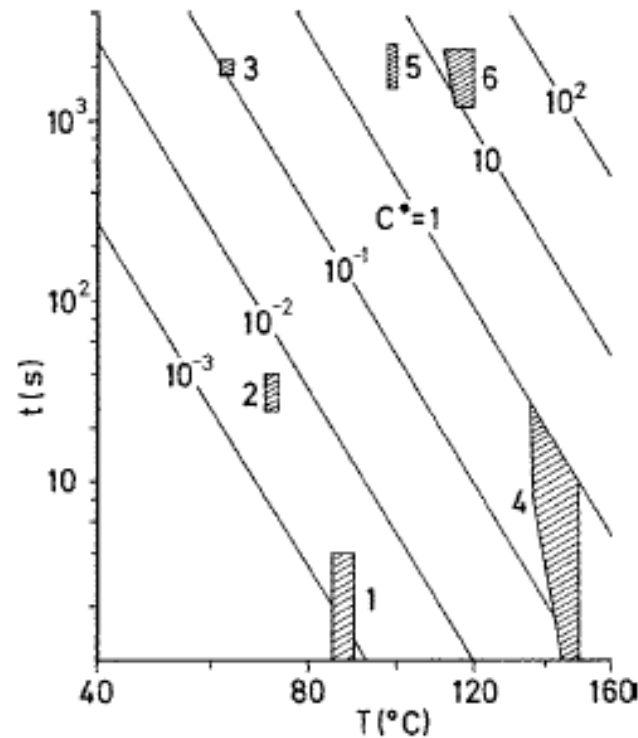
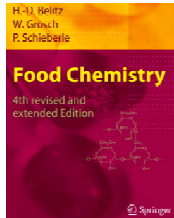
Tali reazioni portano a:

- ✓ Imbrunimento e sviluppo di pigmenti e sostanze aromatiche
- ✓ Perdita del valore nutrizionale dovuto ad una ridotta biodisponibilità degli aa proteici.
- ✓ Formazione di legami crociati intra- ed inter-proteici.

Ad esse però vanno affiancate tutta una serie di altre modificazioni a carico delle costituenti del latte che ne modificano le proprietà nutrizionali e tecnologiche

# MARKER di TRATTAMENTO TERMICO

U4



**Fig. 10.18.** Chemical reactions in heat-treated milk. ("Chemical effect"  $C^* = 1$ : losses of approx. 3% thiamine and approx. 0.7% lysine and formation of approx. 0.8 mg/l HMF); commonly used heat treatments: 1 high heat, 2 short time heating, 3 prolonged heating, 4 UHT treatment, 5 boiling, 6 sterilization (according to Kessler, 1983).

HMF: Hydroxymethylfurfural

# MARKER di TRATTAMENTO TERMICO

U4

**NB: alcune reazioni sono in competizione e dipendono dalla disponibilità dei substrati.**

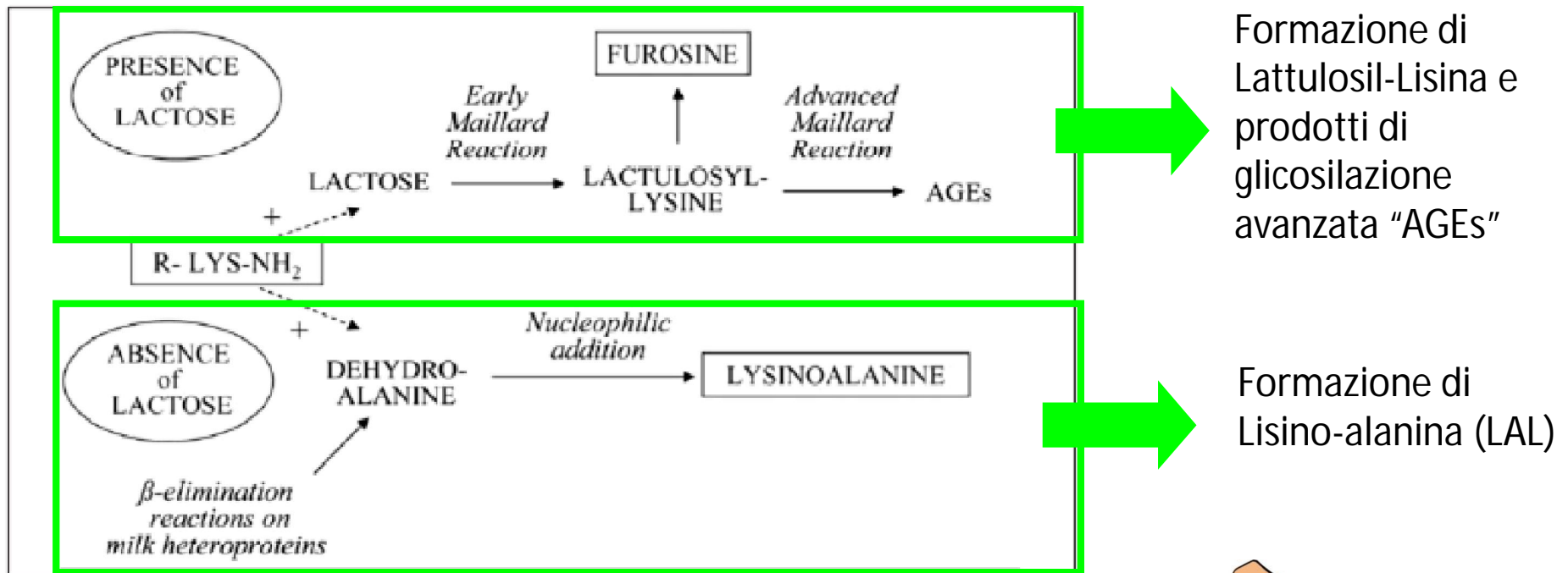


Fig. 9 - Heat-induced competitive reactions of lysine residues in milk protein in the presence or absence of lactose.



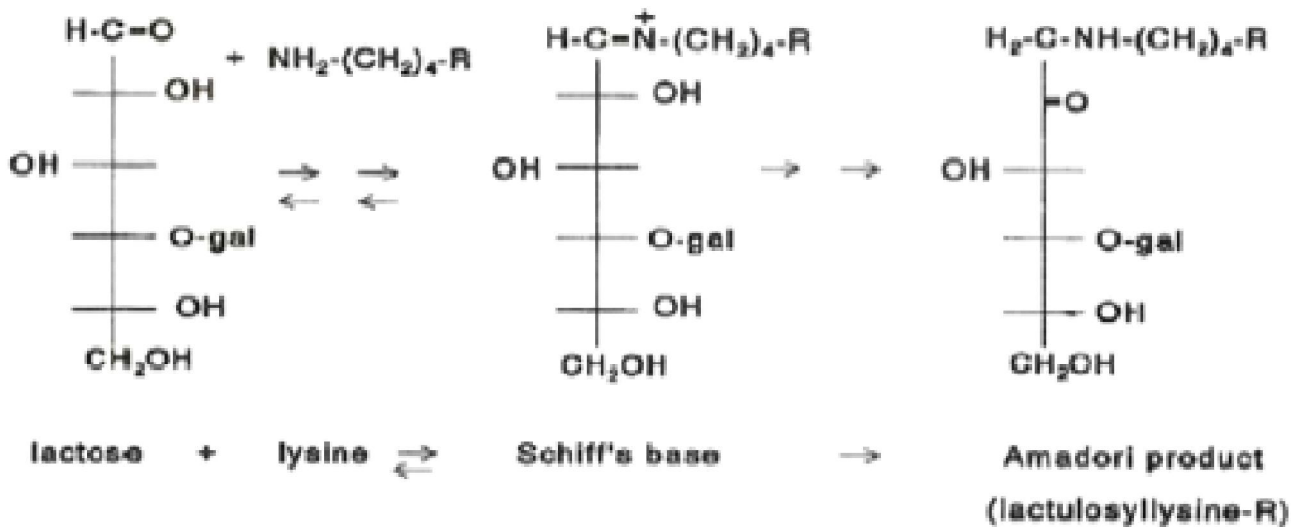
# MARKER di TRATTAMENTO TERMICO

U4

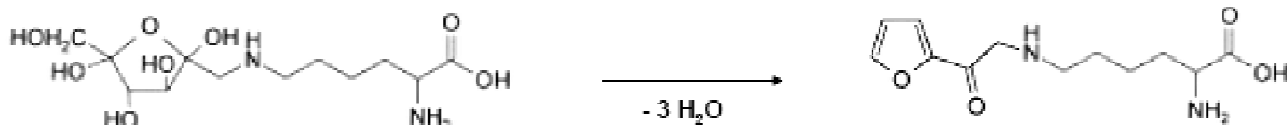
## Formazione della Lattulosil-Lisina (LL)

La reazione avviene tra un residuo di lisina libero ed il lattosio.

Il Composto di Amadori (LL) o composto di glicosilazione non enzimatica si forma anche in latti non termizzati seguendo però una velocità di reazione molto lenta.



Il prodotto di idrolisi acida della LL, la **FUROSINA**, è usato come marker specifico di questa reazione.



$\text{N}^\epsilon$ -Fructosyl-lysine

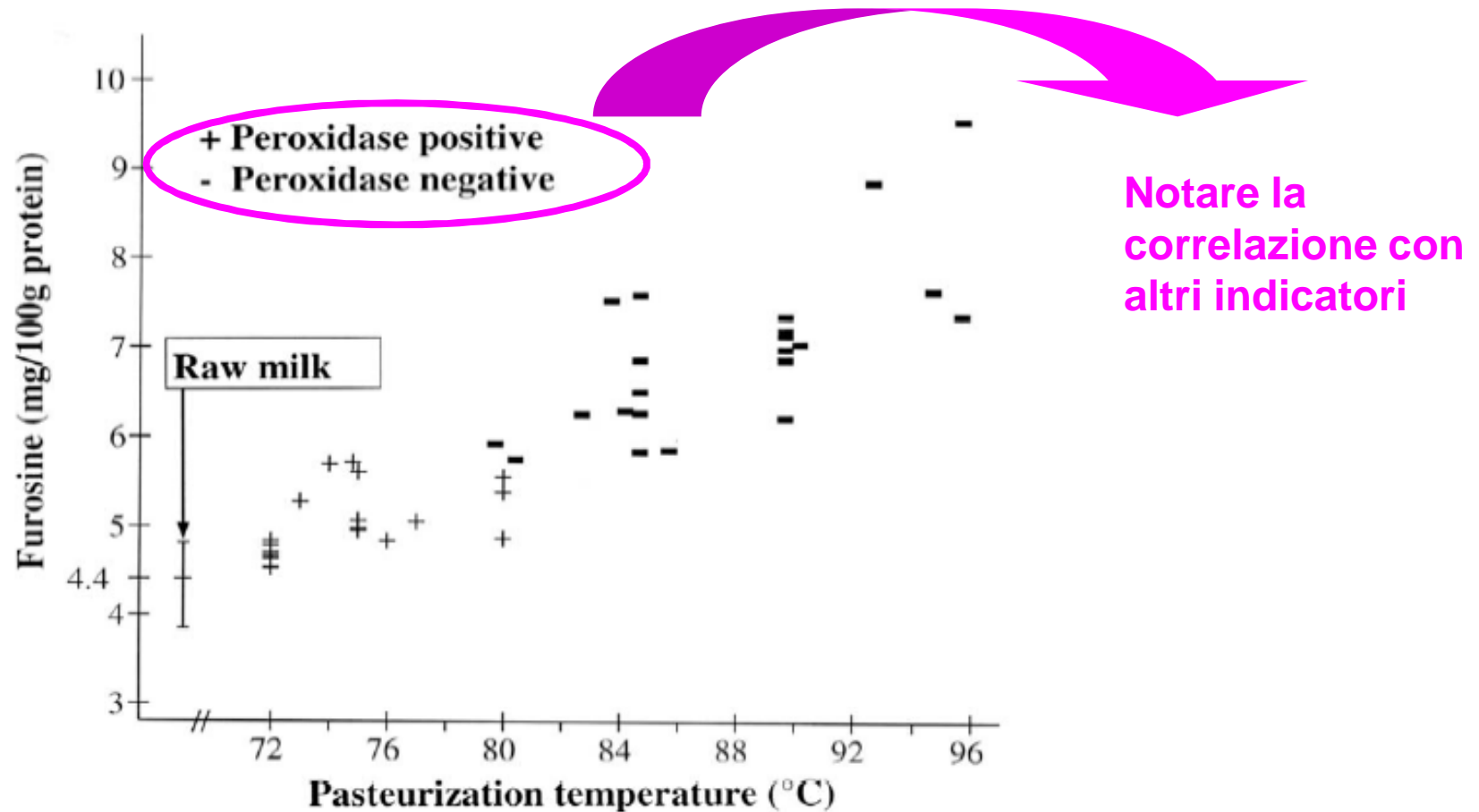
Furosina ( $\text{N}^\epsilon$ -(2-furoylmethyl)-lysine)



# MARKER di TRATTAMENTO TERMICO

U4

Furosina (mg/100g proteine) vs Temperatura di trattamento



# MARKER di TRATTAMENTO TERMICO

U4

## Furosina (mg/100g proteine) vs Lattulosio

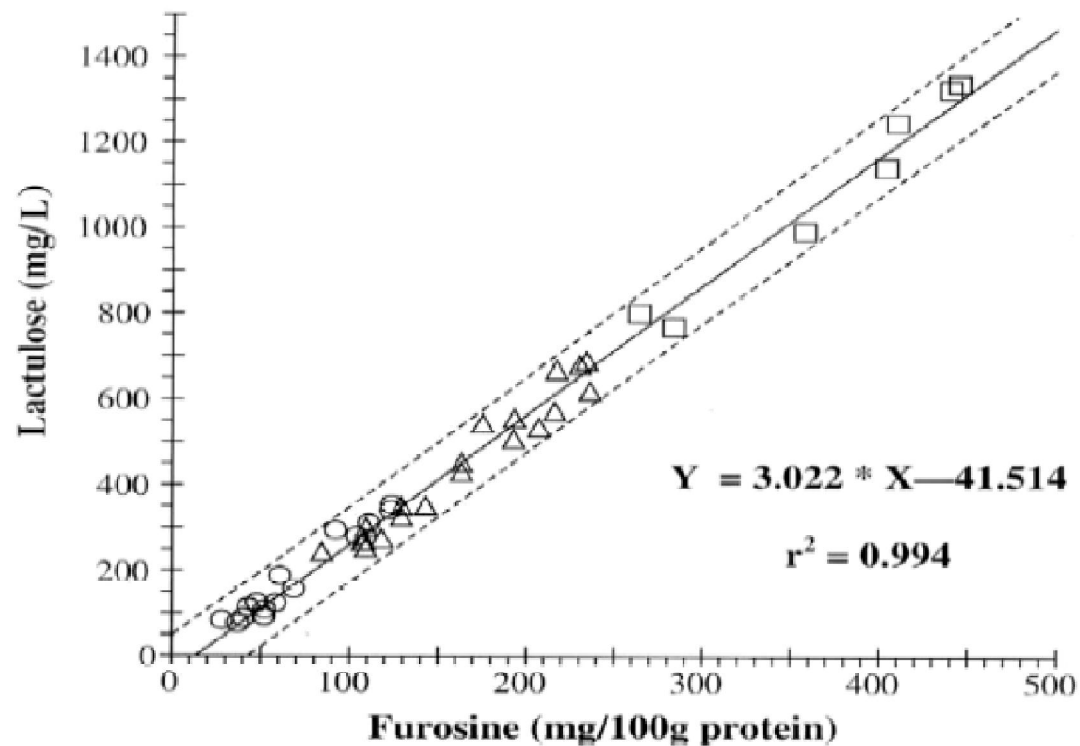


Fig. 4 - Correlation between lactulose and furosine in freshly prepared samples of directly (○, n=17) or indirectly (Δ, n=22) heated UHT milk and in-bottle sterilized milk (□, n=7).  
(---) = confidence limits at ±2σ.

## MARKER di TRATTAMENTO TERMICO

U4

**I prodotti di glicosilazione avanzata AGEs si comportano come xenobiotici ed hanno attività biologica sembra correlata al danno da invecchiamento**

