



SAFE
Scuola di Scienze
Agrarie, Forestali,
Alimentari ed
Ambientali



Progetto di ricerca presentato
ai sensi del D.M. n. 274/43 del 25/09/2018
e finanziato nell'ambito del fondo
per gli investimenti nel settore
lattiero-caseario
Durata 30 mesi: Aprile 2019 - Ottobre 2021

www.milkbioactincaps.com



22 ottobre 2021 FIELD-DAY Giornata dimostrativa

I risultati del progetto

CREA Zootecnica e Acquacoltura, SS
7, Via Appia sn – Bella-Muro (PZ)



Obiettivi del progetto

1. Recupero scarti di leguminose dall'industria alimentare
 - Messa a punto di un decorticatore per l'ottenimento del tegumento delle lenticchie
 - Estrazione e caratterizzazione dei composti bioattivi ottenuti dai tegumenti
 - Formulazione di microcapsule contenenti i composti bioattivi selezionati
2. Formulazione di razioni alimentari per bovine con mangimi convenzionali e fortificati con le microcapsule
3. Analisi dell'effetto delle razioni sulla
 - composizione del microbiota del rumine
 - sulla qualità del latte
 - e dei formaggi derivati

PROGETTO MILKBIOACTINCAPS

Utilizzo di microincapsulati di composti bioattivi da scarti dell'industria alimentare come integratori di mangimi per il miglioramento dell'attitudine fermentativa e della valenza nutraceutica del latte

I RISULTATI

Messa a punto di un decorticatore per l'ottenimento del tegumento delle lenticchie ed estrazione dei composti fenolici

Giovanni Carlo Di Renzo, Giuseppe Altieri, Francesco Genovese - *Scuola di Scienze Agrarie, Forestali, Alimentari ed Ambientali (SAFE), Università degli Studi della Basilicata (UNIBAS) - Potenza*

L'attività di ricerca del gruppo di Macchine e Impianti per l'industria agroalimentare si è focalizzata sull'assemblaggio di un prototipo per la decorticatura di lenticchie, e sull'esecuzione di prove sperimentalì per l'ottimizzazione del processo di recupero di estratti fenolici da impiegare nell'alimentazione di bovine da latte.

Metodologia e i principali risultati raggiunti

Per le prove sperimentalì sono state utilizzate lenticchie della varietà Laird e Eston.

Le prove di decorticatura hanno seguito un protocollo sperimentalì, basato sulla variazione delle seguenti grandezze del prototipo assemblato:

1. Velocità del prototipo, in relazione alla frequenza impostata sull'inverter. Sono state comparati 3 valori di frequenza (40, 50 e 60 Hz), che restituiscono le seguenti velocità del rotore: 1840, 2300 e 2800 giri/minuto.
2. Portata di aspirazione della cuticola; per questo parametro, ove possibile, sono stati comparati tre valori: a) debole, b) intermedia e c) elevata.
3. Regolazione della tramoggia di passaggio del prodotto grezzo tra 1 cm (regolazione minima) e 1,5 cm.

Nel complesso, sono state prese in considerazione otto combinazioni di prove sperimentalì, tutte eseguite in tre repliche tecniche, su lotti di 10 kg di lenticchie.



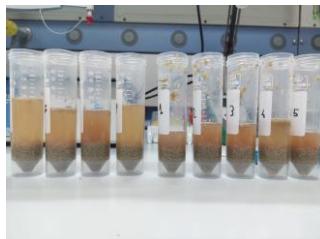
Alcune combinazioni sperimentali, inoltre, sono state tentate ma non hanno restituito risultati "macchinabili" e pertanto sono state abbandonate.

I principali risultati per questa attività hanno evidenziato che la velocità, e quindi il tempo di residenza delle lenticchie nella macchina, condizionano non soltanto la ripartizione nelle varie frazioni, ma anche l'impatto meccanico sulle lenticchie stesse, e pertanto al tempo di residenza più elevato, corrispondente alla velocità più bassa, si ottiene un maggior danno meccanico, ed una maggior percentuale di lenticchie rotte.

Inoltre, con riferimento alla messa a punto di una linea di estrazione dei composti fenolici, presso il laboratorio Maclab di macchine e impianti, sono state condotte prove comparative di estrazione con le seguenti metodologie: a. Estrazione in acqua, b. Estrazione con ultrasuoni.

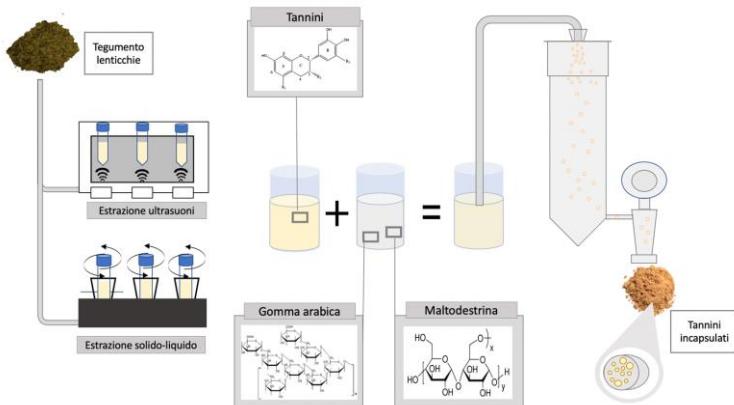
Le prove sperimentali, in scala di laboratorio, sono state effettuate impiegando generalmente un rapporto cuticole:solvente di 0,2:40 (g/ml). L'applicazione degli ultrasuoni, per mezzo di bagno ad ultrasuoni con potenza pari a 250 W (130 W efficaci) e frequenza 40 kHz, è stata effettuata per tempi variabili, da un minimo di 20 minuti ad un massimo di 2 ore. Le condizioni di funzionamento degli US, e i tempi di trattamento, sono stati individuati sulla base di riferimenti bibliografici e di prove sperimentali preliminari in fase di messa a punto delle procedure.

I protocolli operativi sono stati progettati in collaborazione tra le unità di ricerca di Macchine e Impianti (AGR09) e di Tecnologie Alimentari (AGR15).



Produzione di microcapsule contenenti estratti da scarti alimentari

Fernanda Galgano, Nicola Condelli, Roberta Tolve, Teresa Scarpa, Marisa C. Caruso - Scuola di Scienze Agrarie, Forestali, Alimentari ed Ambientali (SAFE), Università degli Studi della Basilicata (UNIBAS) - Potenza



I tannini condensati presenti nel tegumento delle lenticchie hanno importanti proprietà antiossidanti, antibatteriche e possono modulare la biodidrogenazione degli acidi grassi nel rumine. Di conseguenza, il loro recupero dai sottoprodotti agroindustriali è una tematica di forte interesse. Per estrarli dalle matrici vegetali generalmente viene impiegata una miscela di acqua e metanolo.

Tuttavia il metanolo è altamente tossico ed è ottenuto da gas naturale, ovvero da fonte non rinnovabile. Valutare l'impiego di solventi più ecologici come l'etanolo o l'acqua è quindi una tematica di forte interesse. Allo scopo di recuperare un'elevata quantità di molecole bioattive dal tegumento delle lenticchie, è stato valutato l'impiego dell'estrazione convenzionale solido-liquido e dell'estrazione coadiuvata dagli ultrasuoni.



Tenendo conto della resa dell'estrazione, del costo e dell'impiego di solvente green, è stata selezionata l'estrazione convenzionale in acqua come processo di estrazione dei composti fenolici.

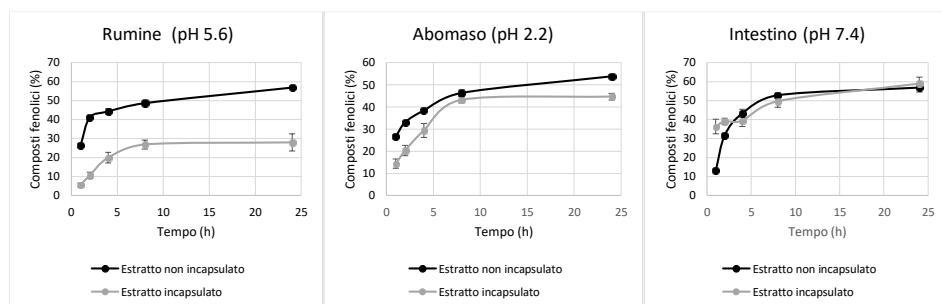
Tuttavia, data l'instabilità e l'astringenza dei tannini, è sconsigliato il loro impiego tal quale per la supplementazione dei mangimi.

La microincapsulazione in matrici protettive potrebbe essere uno strumento utile per superare questo inconveniente migliorando, allo stesso tempo, la biodisponibilità del composto attraverso un rilascio sito-specifico nel rumine.

Per tale motivo i composti fenolici sono stati microincapsulati mediante la tecnica dello spray-drying impiegando la gomma arabica e le maltodestrine come polimeri di rivestimento prima di essere aggiunti alle razioni alimentari delle bovine.

L'estratto microincapsulato e il non microincapsulato sono stati sottoposti a digestione in vitro per simulare il rilascio di composti fenolici. Il sistema digestivo dei ruminanti è stato simulato mediante l'impiego di acetato buffer (pH 5.6) per simulare il rumine, HCl buffer (pH 2.2) per l'abomaso e fosfato buffer (pH 7.4) per simulare le condizioni a livello intestinale.

L'estratto microincapsulato ha determinato a livello ruminale un evidente rallentamento della percentuale di rilascio dei composti fenolici. Risultato positivo, dal momento che è proprio a livello del rumine, dove avviene la boidrogenazione degli acidi grassi, che bisogna garantire un rilascio graduale dei composti fenolici per aumentare la biodisponibilità e l'utilizzo dei composti.



Formulazione della dieta arricchita in Tannini e alimentazione delle bovine

Paolo Polidori¹ - Salvatore Claps² - Rosanna Paolino² - Lucia Sepe²

¹ Scuola di Scienze del Farmaco, Università di Camerino

² CREA Consiglio per la ricerca in agricoltura e l'analisi dell'economia agraria, Centro di ricerca Zootecnia e Acquacoltura, Bella-Muro (PZ)

Introdurre tannini attraverso la dieta significa assumere dei potenti antiossidanti naturali, con un benefico effetto sull'apparato digerente e sul benessere animale. Inoltre, rispettando la flora batterica aiutano a rinforzare il sistema immunitario.

Per gli allevatori questo significa maggiore sicurezza e un miglioramento della produzione in modo assolutamente naturale e rispettoso degli animali.

La moderna nutrizione animale cerca di sostenere e promuovere la crescita degli animali da reddito migliorando al contempo il benessere e salute.

Tra gli additivi naturali, i polifenoli e i tannini si presentano come una preziosa risorsa, agendo sul metabolismo dell'animale in maniera completamente naturale.

I tannini sono naturalmente presenti in numerosi foraggi, soprattutto nelle piante di zone marginali, e in alcuni sottoprodotti agro-alimentari. Grazie alla loro capacità di creare legami con le proteine e alla loro attività antimicrobica, i tannini possono influenzare il metabolismo ruminale, migliorando l'assorbimento proteico e diminuendo le emissioni azotate.

È stata effettuata una prova di alimentazione (gen-feb) su 2 gruppi di bovine in lattazione, dove il gruppo sperimentale ha ricevuto tannini condensati microincapsulati pari al 2,5% della Sostanza Secca della razione. La prova è stata ripetuta a luglio-agosto



	Gruppo Controllo	Gruppo Trattato
Sostanza Secca	55,00 %	55,80 %
Proteine Grezze	14,85 %	14,15 %
Lipidi Grezzi	4,00 %	4,00 %
Ceneri	10,50 %	9,00 %
Amido	18,00 %	20,0 %
NDF	46,80 %	46,30 %
ADF	31,65 %	29,40 %

Le due razioni

- prevedono lo stesso apporto totale di S.S.
- sono perfettamente isoenergetiche
- sono pressoché isoproteiche (14,85% vs. 14,15% P.G.)

Risultati

- Le bovine in prova hanno mostrato un grado significativo di accettabilità della dieta arricchita in tannini microincapsulati.
- non si evidenziano differenze significative tra i due gruppi, a dimostrazione della valida sovrapponibilità delle due diete usate nella presente sperimentazione.
- Per quanto riguarda la Produzione di latte individuale (litri/capo/giorno) non vi sono state differenze significative tra i due gruppi, confermando quanto osservato in studi precedenti.

Realizzazione di prove di caseificazione per la produzione di caciotta

Lucia Sepe - CREA Consiglio per la ricerca in agricoltura e l'analisi dell'economia agraria, Zootecnia e Acquacoltura, Bella-Muro (PZ)

Nei giorni di inizio prova e per 3 giorni consecutivi a fine prova è stato raccolto il latte dei gruppi e trasformato in formaggio tipo caciotta (500-600 g).

Le lavorazioni del latte dei due gruppi Controllo e Microcapsule sono avvenute in parallelo, con il seguente processo:

Pastorizzazione 72°C per 15 secondi → pre-innesto fermenti (mesofili+termofili) in 1 L di latte a 42°C → Aggiunta pre-innesto in caldaia → Aggiunta di caglio liquido di vitello 1:18.000 in proporzione 32 ml / 100 L → Taglio a croce → rivoltamento superficiale → rottura «a nocciola» con spino a lira → rivoltamento con spannarola → sosta → estrazione siero → messa in fuscella → stufatura (2,5 ore) con 1 rivoltamento ogni 30 min → cella fredda → il giorno dopo Salatura a mano → cella fredda 6-8°C e 75-80% umidità → estrazione dalla fuscella

Asciugatura per 2 gg in cella a 6-8°C e umidità 55-60% → stagionatura fino a 20-21 gg a 12°C e umidità 75-80%

Nel gruppo Microcapsule (M) è stata osservata una più rapida presa e coagulazione rispetto al gruppo Controllo (C). Inoltre, il coagulo presentava una maggiore

consistenza e il siero si presentava più limpido, con valori di pH leggermente inferiori rispetto al gruppo C; la cagliata si presentava più compatta sin dal primo rivoltamento. La resa a fine prova è stata superiore nel gruppo M sia a 24 ore sia a 20 giorni (11,51%), rispetto al gruppo C (11,25%).



Il latte biofortificato con tannini microincapsulati - La qualità nutrizionale (caratteristiche chimico-fisiche)

Lucia Sepe, Rosanna Paolino, Attilio Matera – CREA Centro di ricerca Zootecnia e acquacoltura – Bella-Muro (Potenza)

Risultati sulla qualità del LATTE

Nel gruppo Microcapsule è stata osservata una riduzione significativa dell'Urea a fine prova. È un aspetto positivo, dato che il valore dell'Urea influenza la qualità tecnologica del latte per la caseificazione.

Relativamente a tutti gli altri parametri (pH, proteine, grassi, lattosio, ecc.) non sono state registrate differenze significative dovute ai trattamenti o al prelievo.

	Inizio prova		Media 3 campionamenti a fine prova	
	Controllo	Microcapsule	Controllo	Microcapsule
Urea (mg/dl)	31,81	23,67	28,96	18,37

La diminuzione del contenuto di Urea potrebbe essere determinata dalla limitata biodisponibilità di proteine, che potrebbero anche essersi legate in modo aspecifico ai tannini presenti nel mangime fortificato.



Il formaggio è un alimento che troppo spesso viene messo sotto accusa per essere molto calorico, ricco di acidi grassi saturi e *trans*, colesterolo, ritenuti dannosi per il sistema cardiocircolatorio.

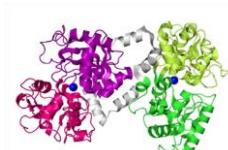
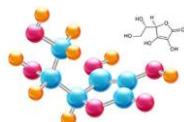
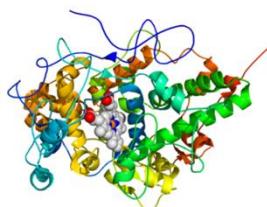
Complessivamente, il trattamento con tannini condensati microincapsulati ha determinato un generale miglioramento del valore nutrizionale e aromatico dei formaggi.

Effetto della dieta arricchita in tannini condensati sulla qualità funzionale di latte e formaggi

Silvia Vincenzetti, Giuseppe Santini - Scuola di Bioscienze e Medicina Veterinaria, Università di Camerino (UNICAM) - Camerino

Il Gruppo UNICAM ha avuto lo scopo di determinare la qualità nutrizionale e "funzionale" del latte e dei formaggi prodotti da bovine alimentate contannini microincapsulati ricchi di composti bioattivi (gruppo trattati). I dati ottenuti sono stati confrontati con un gruppo di controllo alimentato con dieta standard (gruppo controlli). Per tutti i campioni sono state effettuate le seguenti analisi: vitamine idrosolubili e liposolubili, saggio di perossidazione lipidica (determinazione della malonildialdeide, MDA) per valutare le eventuali proprietà antiossidanti dei composti bioattivi, profilo proteico (contenuto di lattoferrina, alfa-lattalbumina, beta-lattoglobulina, lisozima) e attività dell'enzima lattoperossidasi.

I risultati ottenuti nei campioni di **latte** hanno mostrato che il contenuto di MDA (prodotto finale della perossidazione lipidica) diminuisce per effetto del trattamento con microincapsulati, indicando che questi ultimi possiedono **una buona attività antiossidante**. Questo risultato viene confermato dal fatto che il contenuto di vitamina C e l'attività della lattoperossidasi aumentano significativamente nel latte del gruppo trattato con microincapsulati a fine trattamento rispetto al gruppo Controllo. Anche il contenuto della vitamina E (tocoferolo) aumenta significativamente nel gruppo dei trattati. Nell'interpretare i risultati dei campioni di formaggio, si deve tenere conto dell'effetto che il tempo di prelievo e dalla stagionatura esercitano sul contenuto di alcune biomolecole «funzionali» come le vitamine idrosolubili, tra cui la vitamina C e sull'attività della lattoperossidasi.



Il contenuto della vitamina A nei formaggi provenienti dalla prima prova di alimentazione viene influenzata in maniera positiva dal trattamento con i microincapsulati e nella seconda prova di alimentazione la vitamina E risulta sempre presente e rimane stabile durante tutto il periodo di osservazione. Il processo di perossidazione dei grassi aumenta con la stagionatura, tuttavia il trattamento con i tannini microincapsulati sembra esercitare un effetto protettivo in quanto si nota una diminuzione della MDA dopo 35 giorni di osservazione.

In tutti i campioni di latte e di formaggio, il contenuto delle principali sieroproteine (lattoferrina, alfa-lattalbumina, beta-lattoglobulina) rimane inalterato durante il periodo di osservazione, sia nei trattati che nel controllo.



La lattoperossidasi, la vit. C e la vit. E sono noti agenti antiossidanti: la lattoperossidasi insieme ai suoi substrati, al perossido di idrogeno e ai prodotti ossidati costituisce il «sistema lattoperossidasi».

I prodotti ossidati, frutto dell'azione di questo enzima, presentano attività battericide e antivirali.

Inoltre, la vitamina E (tocoferolo) è un nutriente vitaminico essenziale per l'uomo ed è un potente antiossidante liposolubile, ha un ruolo importante nella prevenzione dell'ossidazione degli acidi grassi polinsaturi, evento chiave nello sviluppo del processo di perossidazione lipidica.

Il latte e i formaggi biofortificati con tannini microincapsulati - La qualità nutrizionale (acidi grassi)

Lucia Sepe, Atilio Matera, Maria Antonietta Di Napoli, Salvatore Claps - CREA
Centro di ricerca Zootecnia e acquacoltura – Bella-Muro (Potenza)

In latte e formaggi alcune classi di acidi grassi come gli **Insaturi**, oltre a singoli acidi grassi, contribuiscono al benessere del consumatore:

1. **Acidi grassi SATURI:** acido butirrico, per la sua **azione bioattiva anticancerogena a basse dosi** e in sinergia con altre sostanze bioattive come il resveratrolo, la vitamina A e D; **acido stearico - diminuzione della colesterolemia, diminuzione delle LDL e livello inalterato delle HDL;** acidi grassi a catena dispari (C15:0; C17:0) recentemente alcuni studi hanno mostrato un'associazione inversa con l'incidenza di malattie cardiovascolari;
2. gli **acidi grassi ramificati**, responsabili, soprattutto, dell'aroma dei prodotti e per la loro **proprietà citotossica verso le cellule tumorali della mammella**
3. alcuni isomeri dell'**acido linoleico coniugato (CLA)**, che hanno un'azione bioattiva in qualità di **anticancerogenici, antiaterogenici e attivatori immuno-stimolatori**
4. gli acidi grassi della serie omega-3, tra i quali l'acido alfa-linolenico (ALA), l'EPA (acido eicosapentaenoico) e il DHA (acido docosaeanoico), presenti in quantità più modeste nel grasso del latte. Questi omega-3 contribuiscono a diminuire il rapporto $\omega 6/\omega 3$, e devono essere assunti con la dieta, non essendo sintetizzati negli organismi animali.

I risultati delle prove di alimentazione hanno mostrato nel gruppo Microcapsule per il **latte**:

- Aumento degli acidi grassi Insaturi e omega-3 totali
- Aumento biosintesi di LA e ALA
- Diminuzione degli ac. grassi saturi a catena lunga (ipercolesterolemici)

Per il **formaggio**:

Maggiore contenuto in acidi grassi a lunga catena (C16 – C22)
Maggiore contenuto di acidi grassi di interesse nutrizionale - acido linoleico (LA), l'alfa-linolenico (ALA), l'acido linoleico coniugato (CLA)

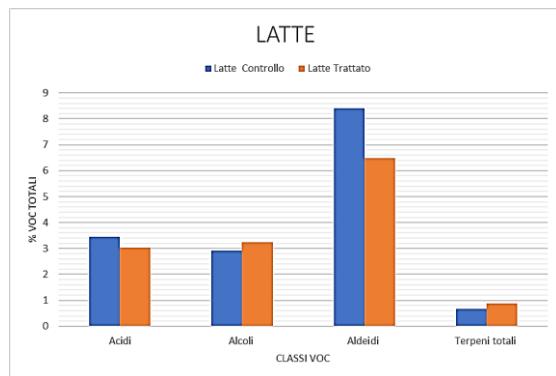
In generale: Maggiore protezione degli acidi grassi insaturi dall'ossidazione

Il latte e i formaggi biofortificati con tannini microincapsulati - La qualità aromatica

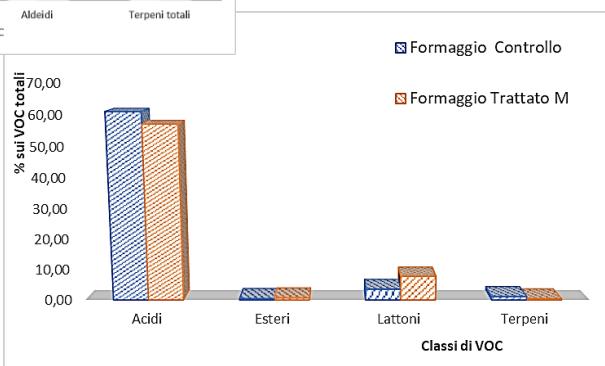
Lucia Sepe, Attilio Matera, Giulia Francesca Cifuni, Maria Antonietta Di Napoli, Salvatore Claps, Giuseppe Morone – *CREA Centro di ricerca Zootecnia e acquacoltura – Bella-Muro (Potenza)*

Le molecole volatili aromatiche (11 classi) costituiscono il profilo aromatico del latte e del formaggio, in un mix soggetto a diversi fattori. Questi composti esprimono un legame diretto o indiretto con l'alimentazione animale.

Le analisi dei campioni di latte e formaggio delle prove hanno mostrato: nel latte la diminuzione degli acidi grassi liberi e delle aldeidi, e l'aumento degli alcoli e dei terpeni; nel formaggio: diminuzione degli acidi, e aumento di esteri e lattoni
Una delle cause può essere la protezione dei grassi durante il processo di lipolisi.



Alcoli: note verde e floreale
Aldeidi: note erbacee
Esteri: note di burro e fruttato
Lattoni: note di fruttato
Terpeni: note erbacee, floreali e balsamiche



La risposta del consumatore e il profilo sensoriale

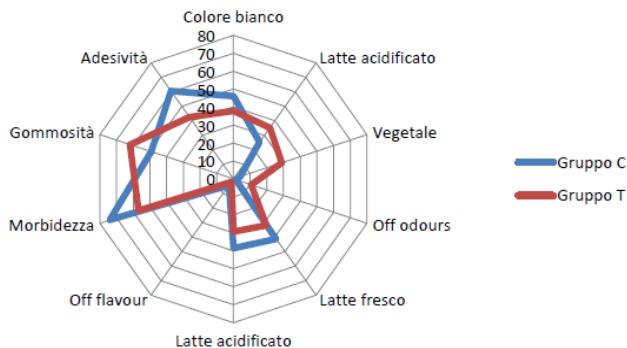
Nicola Condelli, Fernanda Galgano, Marisa C. Caruso - SCUOLA SAFE UNIBAS

Per le valutazioni sensoriali sono stati eseguiti sia test discriminanti (test triangolare) che descrittivi (QDA).

Test Triangolare – 60 giudici abituali consumatori di latte e formaggi

QDA - 10 Giudici addestrati il latte e i formaggi.

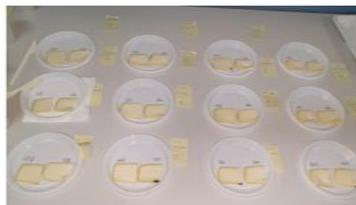
L'aggiunta di tannini micro incapsulati nella razione alimentare influenza le caratteristiche sensoriali del latte e dei formaggi, le differenze fra i campioni sono state evidenziate dai risultati dei test discriminanti e confermati dai risultati dell'analisi quantitativa descrittiva.



L'analisi quantitativa descrittiva ha consentito di individuare gli attributi la cui intensità è significativamente influenzata dal fattore «campione».

Come ulteriori approfondimento è stato eseguito un consumer test sui formaggi, al fine di valutare se le differenze percepite ed evidenziate sia dai risultati dei test discriminanti che di quelli descrittivi potessero influenzare il giudizio di gradimento dei consumatori.

**NON E' STATO EVIDENZIATO NESSUN
EFFETTO SIGNIFICATIVO** e la qualità
complessiva dei formaggi ha influenzato
positivamente il giudizio.



È sempre più crescente la sensibilità del consumatore verso alcuni aspetti della catena produttiva degli alimenti: ecologia, sostenibilità, economia circolare, oltre ad una maggiore qualità nutrizionale e salutistica, soprattutto per i prodotti zootecnici (latte e formaggio), spesso denigrati come dannosi per l'uomo.

In risposta a questo accresciuto interesse, gli operatori dei settori Ricerca, Produzione Zootecnica e Lattiero-caseario studiano quelle strategie "naturali" in grado di soddisfare la richiesta per un prodotto che possa essere identificato e apprezzato, anche sotto l'aspetto della ecosostenibilità e salutistico.

La dieta fortificata con tannini condensati microincapsulati mira a rispondere a queste esigenze.

I risultati conseguiti nell'ambito di questo progetto hanno mostrato il raggiungimento degli obiettivi prefissati: la possibilità di riutilizzo e valorizzazione degli scarti della produzione primaria (cuticole delle lenticchie) e l'incremento della qualità nutrizionale, aromatica e funzionale di latte e formaggi ottenuta da una dieta arricchita in composti estratti da questi «scarti».

Fernanda Galgano e Lucia Sepe