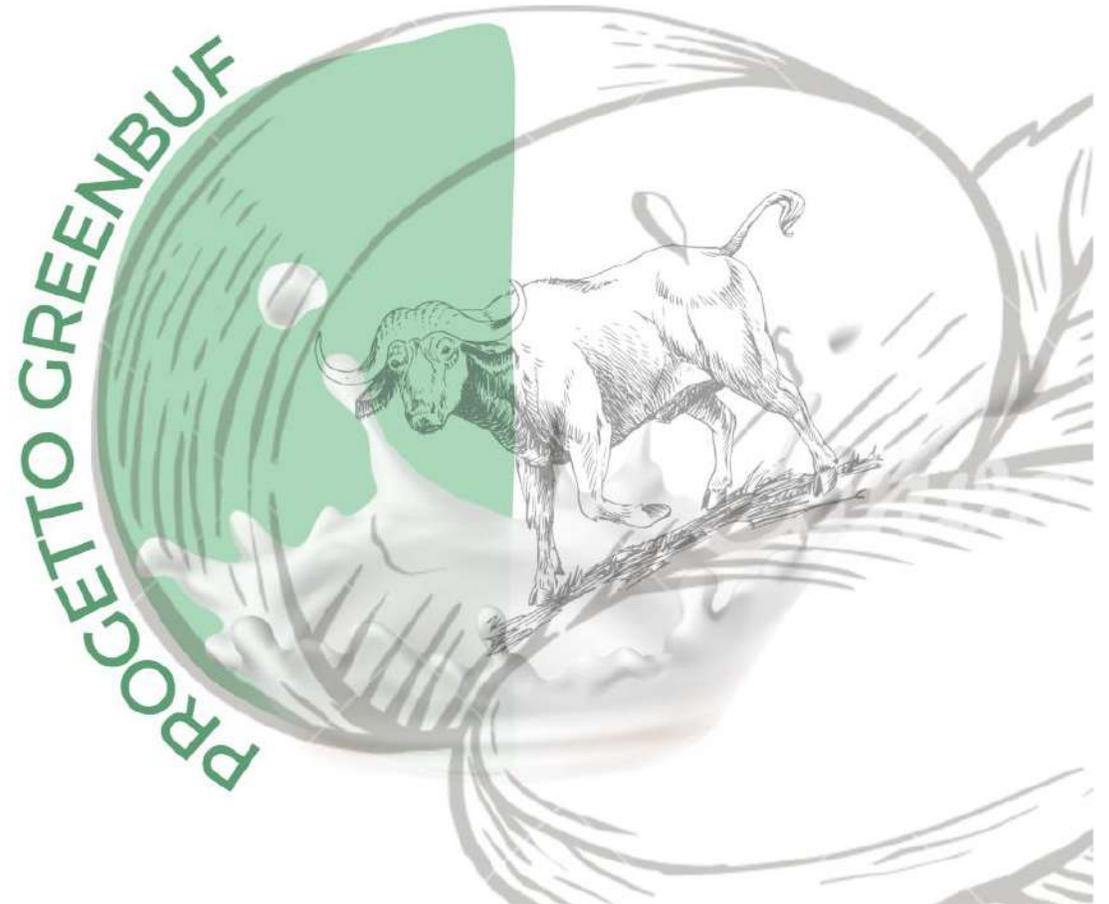


## *Settore lattiero-caseario bufalino:*

Riutilizzo e valorizzazione di sottoprodotti e materie di scarto, **risultati preliminari e nuove prospettive**

Scienza applicata - Latte e latticini vaccini e bufalini

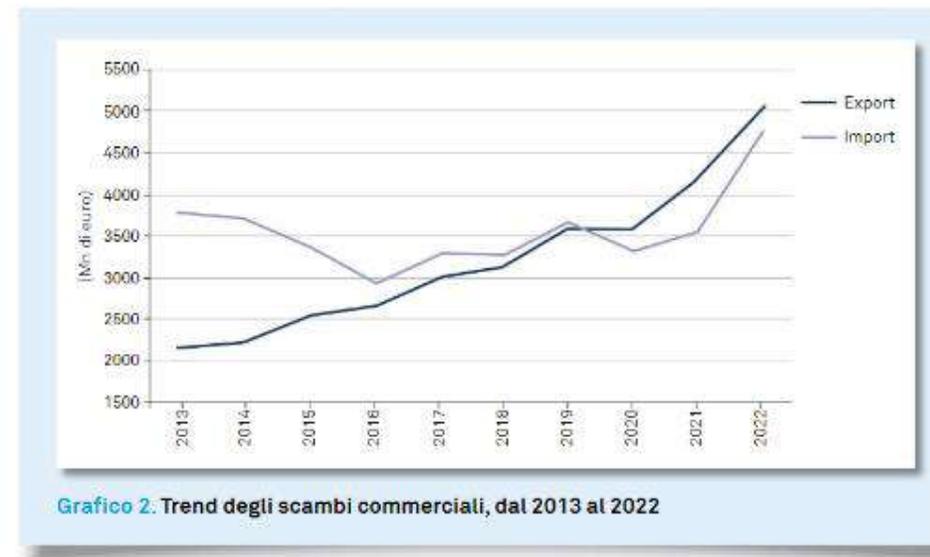


| Prodotti                         | PRODUZIONE CERTIFICATA<br>(tonnellate) |                |           | VALORE ALLA PRODUZIONE<br>(milioni di euro) |              |           |
|----------------------------------|--|----------------|-----------|---|--------------|-----------|
|                                  | 2021                                   | 2022           | Var 22/21 | 2021  | 2022         | Var 22/21 |
| Grana Padano DOP                 | 203.290                                | <b>202.051</b> | -0,6%     | 1.460                                       | <b>1.734</b> | +18,8%    |
| Parmigiano Reggiano DOP          | 155.277                                | <b>161.520</b> | +4,0%     | 1.607                                       | <b>1.720</b> | +7,0%     |
| Prosciutto di Parma DOP          | 80.230                                 | <b>78.350</b>  | -2,3%     | 838   | <b>932</b>   | +11,2%    |
| Mozzarella di Bufala Campana DOP | 54.039                                 | <b>55.815</b>  | +3,3%     | 459   | <b>502</b>   | +9,4%     |



## Il settore lattiero-caseario, numeri e prospettive

Con circa 490 tipi differenti di formaggi l'Italia è protagonista assoluta nel mondo per diversità e gusto. Sono ben 56 le produzioni casearie che si possono fregiare della denominazione di origine



La **Mozzarella di Bufala Campana** è il formaggio **Dop** che fa registrare la **crescita di produzione più alta** tra il **2016** e il **2022**, mettendo a segno un **aumento del 26%**, a fronte di una crescita media del 10% della produzione certificata dei formaggi Dop. **Nove italiani** su dieci hanno **consumato** mozzarella di bufala nell'ultimo anno, il **25%** almeno una volta a settimana e il **20%** è pronto a farlo anche a colazione.



*Food systems remain one of the key drivers of climate change and environmental degradation*

**Trasformare i flussi di rifiuti in prodotti a valore aggiunto**

Il consumo pro capite di prodotti lattiero-caseari dovrebbe rimanere sostanzialmente stabile, ma si prevede che **i cambiamenti dello stile di vita e le esigenze di una popolazione sempre più anziana** aumenteranno la richiesta di alimenti fortificati, con integrazioni di vitamine e minerali, e funzionali. La decelerazione dell'inflazione dovrebbe far riprendere i consumi interni.

**Figura 1.** Liquidi di scarto nelle produzioni del settore lattiero-caseario bufalino: (a) siero di caseificazione di latte di bufala, (b) scotta di bufala dalla produzione della ricotta, (c) latticello di bufala dalla produzione del burro.



Nonostante diversi siano gli studi che hanno focalizzato l'attenzione sul latte di bufala come fonte di composti funzionali e probiotici, ad oggi **solo alcuni hanno valutato le caratteristiche del potenziale nutritivo del siero di latte di bufala** mostrando le possibilità di sviluppo futuro nel settore alimentare e nutraceutico.

> Foods. 2023 Apr 23;12(9):1752. doi: 10.3390/foods12091752.

## Utilization of Dairy By-Products as a Source of Functional and Health Compounds—The Role of Ovine Colostrum and Milk Whey on Chronic Myeloid Leukemia Cells

Carlotta Ceniti <sup>1 2</sup>, Rosa Luisa Ambrosio <sup>3</sup>, Jessica Bria <sup>4</sup>, Anna Di Vito <sup>4</sup>, Bruno Tilocca <sup>1 2</sup>, Aniello Anastasio <sup>3</sup>, Domenico Britti <sup>1 2</sup>, Valeria Maria Morittu <sup>1 2</sup>, Emanuela Chiarella <sup>5</sup>

Affiliations + expand

PMID: 37174290 PMCID: PMC10178729 DOI: 10.3390/foods12091752



Original Article

## Organic whey as a source of *Lactobacillus* strains with selected technological and antimicrobial properties

Anna Rzepkowska, Dorota Zielińska ✉, Aleksandra Ołdak, Danuta Kołożyn-Krajewska

First published: 17 May 2017 | <https://doi.org/10.1111/ijfs.13471> | Citations: 27

Review

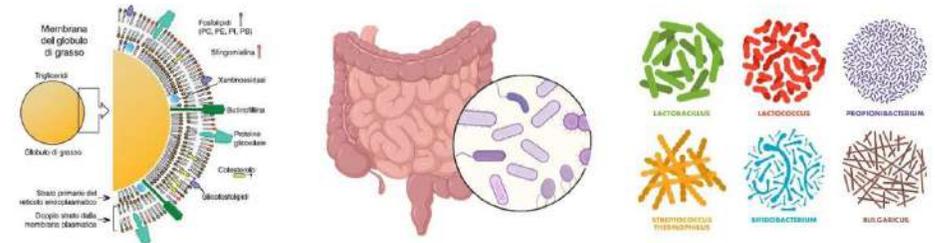
## Compositional Characteristics of Mediterranean Buffalo Milk and Whey

Viviana Garau<sup>1</sup>, Cristina Manis<sup>2</sup>, Paola Scano<sup>2</sup>  and Pierluigi Caboni<sup>2,\*</sup> 

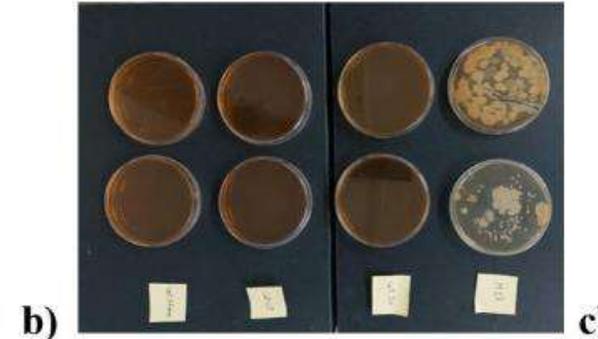
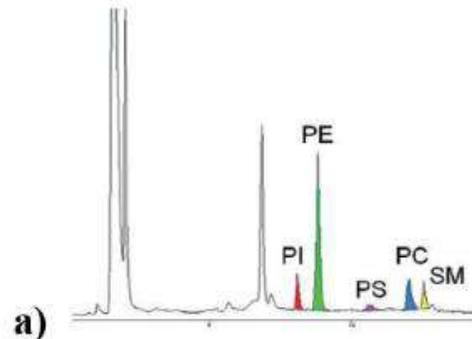
Review

## Buffalo Milk as a Source of Probiotic Functional Products

Márcio Vargas-Ramella<sup>1,2</sup> , Mirian Pateiro<sup>2</sup> , Aristide Maggiolino<sup>3</sup> , Michele Faccia<sup>4</sup> , Daniel Franco<sup>2</sup> ,  
Pasquale De Palo<sup>3</sup>  and José M. Lorenzo<sup>2,5,\*</sup> 



**Figura 3.** Caratterizzazione chimica e microbiologica delle materie di scarto: (a) Estrazione dei lipidi, (b) profilo fosfolipidico, (c) studio dei ceppi di lattobacilli.



**Progetto di dottorato industriale** (PON Re&I 2014-2020)  
in Scienze Veterinarie, presso il Dipartimento di Medicina  
Veterinaria e Produzioni Animali della Federico II di Napoli

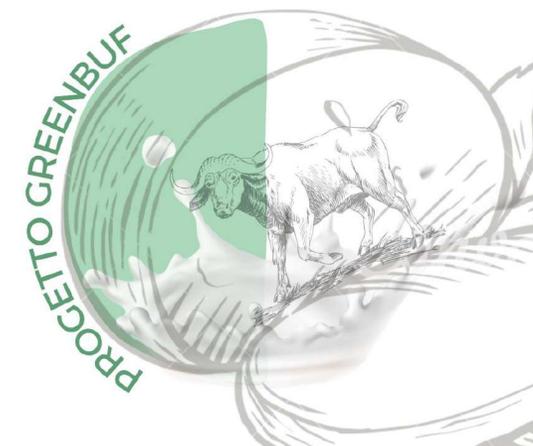


**Titolo:**

***Riutilizzo e valorizzazione di sottoprodotti e delle  
materie di scarto del settore lattierocaseario***

***bufalino – GREENBUF***

***Dr.ssa Marika Di Paolo***



Normalmente una voce da tenere in fortissima considerazione è il **costo per lo smaltimento degli scarti di lavorazione.**

### Obiettivo del progetto

valorizzare la filiera lattiero casearia nel settore bufalino, attraverso lo **sviluppo**, la **validazione** e il **successivo scale-up industriale** di un *processo green* per la valorizzazione economica degli scarti di lavorazione.

## Come?

Dimostrando il **potenziale che le materie di scarto della lavorazione dell'industria lattiero casearia** possiedono, al fine di individuare sostanze che possono essere impiegate per la **realizzazione di prodotti innovativi lattiero caseari con un alto profilo nutraceutico.**

**TRADIZIONE**



**SOSTENIBILITA'**



**INNOVAZIONE**

# DETTAGLIO DELLA PROPOSTA DI PROGETTO

- **Obiettivo 1 - O1:** Identificare e caratterizzare ceppi di lattobacilli (LAB) isolati in particolare da siero di latte di bufala valutandone la sicurezza d'uso e le proprietà tecnologiche per la realizzazione di **prodotti a base di latte di bufala potenzialmente probiotici.**
- **Obiettivo 2 - O2:** Preparare e caratterizzare ingredienti arricchiti di fosfolipidi (PL) a partire da siero e latticello di latte di bufala da utilizzare per lo sviluppo di prodotti di latte di bufala e non solo.

Il progetto si sviluppa in quattro livelli di azione per il raggiungimento degli obiettivi prefissati:

**AZIONE 1 (A1)** - Caratterizzazione microbiologica e chimico-fisica delle materie di scarto (siero, scotta e latticello)

**AZIONE 3 (A3)** - Valutazione della *shelf life* e delle caratteristiche degli alimenti funzionalizzati

**AZIONE 2 (A2)** – Preparazione e caratterizzare degli ingredienti funzionalizzati e sviluppo di prodotti di latte di bufala funzionalizzati

**AZIONE 4 (A4)** – Elaborazione dei dati ed ottimizzazione degli alimenti funzionalizzati

# AZIONE 1 (A1) - Caratterizzazione microbiologica e chimico-fisica delle materie di scarto

## Attività di campionamento

Per il raggiungimento degli obiettivi previsti dall' AZIONE 1 (A1) le attività di campionamento presso le aziende di trasformazione di latte bufalino (**A, azienda di piccole dimensioni e B, azienda di grandi dimensioni**) e il burrificio selezionato hanno avuto inizio a novembre del 2022 per cui si è stabilito un programma di campionamento:

- nei **mesi invernali** (novembre, dicembre e gennaio)
- nei **mesi estivi** (maggio, giugno e luglio)

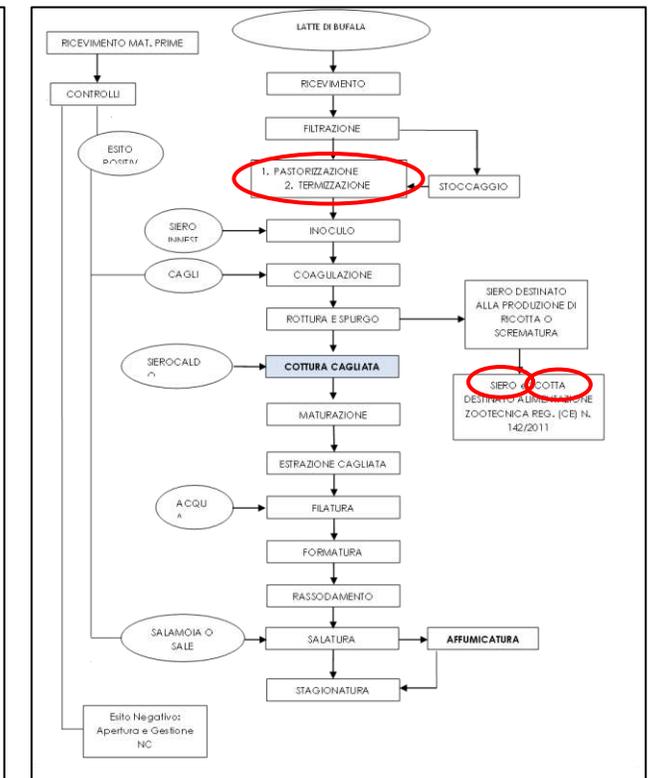
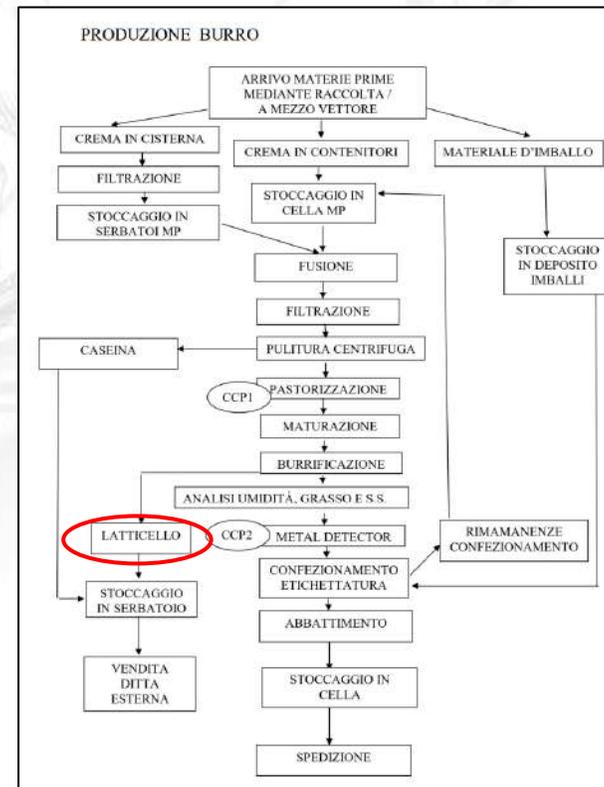
L'attività preliminare comune ad entrambi gli obiettivi ha previsto la caratterizzazione microbiologica e chimico-fisica delle materie di scarto a seguito della raccolta di campioni di:

**LATTE GDO e LOC**

**LATTICELLO**

**SIERO GDO e LOC**

**SCOTTA**



GDO, proveniente dalla lavorazione destinata alle vendite per la grande distribuzione organizzata (Latte pastorizzato 75°C x 15'')

LOC, proveniente dalla lavorazione destinata alla vendita locale (latte termizzato 64°C x 15'')

## OBIETTIVO 1 (O1)

### AZIONE 1 (A1) - Caratterizzazione microbiologica e chimico-fisica delle materie di scarto

O1.1. **Ricerca** (ISO 15214:1998), **identificazione** e **tipizzazione** di ceppi di lattobacilli da latte (LOC) e siero di latte di bufala (GDO e LOC) con MALDI-TOF/MS.



#### 1. PROBIOTICI

Indicazioni per l'uso negli alimenti e negli integratori alimentari di microrganismi probiotici (batteri e/o lieviti), tradizionalmente utilizzati per l'equilibrio della flora batterica intestinale

#### 1.2. Caratterizzazione \*

L'accertamento della posizione tassonomica è volto a garantire la sicurezza del microrganismo usato perché consente di riconoscere la specie con una lunga storia di consumo sicuro.

#### 1.2.a Caratterizzazione dei batteri

##### Identificazione della specie

##### Identificazione del ceppo

Il batterio è considerato sufficientemente caratterizzato solo quando ambedue i criteri sono stati soddisfatti.



- EFSA 2016.4367. "General scientific guidance for stakeholders on health claim applications" Annex B
- EFSA 2009. Scientific opinion on the substantiation of health claims related to non-characterised microorganisms pursuant to Article 13 of Regulation (EC) No 1924/2006 on request from the European Commission. EFSA Journal 2009;7(9):1247, 64 pp. doi:10.2903/j.efsa.2009.1247 Available at <http://www.efsa.europa.eu/en/efsajournal/pub/1247>
- EFSA 2010c. Scientific Opinion on the substantiation of health claims related to non-characterised bacteria and yeasts pursuant to Article 13(1) of Regulation (EC) No 1924/2006. EFSA Journal 2010;8(2):1470, 44 pp. doi:10.2903/j.efsa.2010.1470 Available at <http://www.efsa.europa.eu/en/efsajournal/pub/1470>

**OBIETTIVO 1 (O1)**
**AZIONE 1 (A1) - Caratterizzazione microbiologica e chimico-fisica delle materie di scarto**
**O1.2. Valutazione del profilo di **antibiotico-resistenza (AMR)** dei ceppi di *Lactobacillus* spp.**

| code                        | antibiotics                   | disk content  |
|-----------------------------|-------------------------------|---------------|
| <i>penicilline</i>          |                               |               |
| AMC                         | Amoxicillin - clavulanic acid | 20 - 10 µg    |
| AMP                         | Ampicillin                    | 2 µg          |
| PRL                         | Piperacillin                  | 30 µg         |
| <i>cefalosporine</i>        |                               |               |
| FOX                         | Cefoxitin                     | 30 µg         |
| CPT                         | Ceftaroline                   | 30 µg         |
| <i>fluorochinoloni</i>      |                               |               |
| CIP                         | Ciprofloxacin                 | 5 µg          |
| <i>aminoglicosidi</i>       |                               |               |
| CN                          | Gentamicin                    | 10 µg         |
| <i>glicopeptidi</i>         |                               |               |
| VA                          | Vancomycin                    | 30 µg         |
| <i>macrolidi</i>            |                               |               |
| E                           | Erythromycin                  | 15 µg         |
| <i>tetracicline</i>         |                               |               |
| TE                          | Tetracycline                  | 30 µg         |
| <b>MISCELLANEOUS AGENTS</b> |                               |               |
| SXT                         | Trimethoprim-sulfamethoxazole | 1.25-23.75 µg |
| RD                          | Rifampicin                    | 5 µg          |

**1.4 Sicurezza dei probiotici**

L'uso di un nuovo ceppo microbico, sia pure appartenente ad una specie già impiegata, richiede una nuova valutazione della sicurezza e dell'efficacia, in relazione alla capacità di colonizzare.

Ai fini dell'accertamento della sicurezza, si ribadisce la necessità di una identificazione tassonomica a livello di specie e di ceppo, con le tecniche precedentemente indicate, così come la valutazione del profilo di antibiotico-resistenza (antibatteriche o antimicotiche a seconda dei casi).

Il profilo delle antibiotico-resistenze va determinato per ogni singolo ceppo microbico utilizzato, al fine di escludere la presenza di quelle acquisite e anche di quelle solo potenzialmente trasmissibili.

Come eccezione, non si ritiene necessaria la valutazione della sicurezza di un ceppo che appartiene a specie sufficientemente caratterizzate, così come definito dai documenti EFSA per lo status di QPS per alcuni gruppi batterici. Anche in questo caso, comunque, va valutato il profilo di antibiotico-resistenza.

Su **140** ceppi batterici, selezionati **come possibili tecnologi**, sono stati eseguiti test per valutare la sensibilità a diverse tipologie di antibiotici mediante il test di diffusione su disco di Kirby-Bauer.

I test AMR hanno utilizzato **12 antibiotici** appartenenti ad **8 diverse classi farmacologiche**.

|      |    | AMC | AMP | PRL | FOX | CPT | CIP | CN | VA | E | TE | SXT | RD |
|------|----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|----|----|---|----|-----|----|
| LTC  | 46 |     |     |     |     |     |     |    |    |   |    |     |    |
| LTC  | 14 |     |     |     |     |     |     |    |    |   |    |     |    |
| LTS  | 33 |     |     |     |     |     |     |    |    |   |    |     |    |
| LTS  | 32 |     |     |     |     |     |     |    |    |   |    |     |    |
| LTS  | 24 |     |     |     |     |     |     |    |    |   |    |     |    |
| LTS  | 25 |     |     |     |     |     |     |    |    |   |    |     |    |
| LTS  | 27 |     |     |     |     |     |     |    |    |   |    |     |    |
| LTC  | 7  |     |     |     |     |     |     |    |    |   |    |     |    |
| LTC  | 11 |     |     |     |     |     |     |    |    |   |    |     |    |
| LTC  | 37 |     |     |     |     |     |     |    |    |   |    |     |    |
| LTC  | 44 |     |     |     |     |     |     |    |    |   |    |     |    |
| LTC  | 10 |     |     |     |     |     |     |    |    |   |    |     |    |
| SPC5 | 1  |     |     |     |     |     |     |    |    |   |    |     |    |
| SPC5 | 2  |     |     |     |     |     |     |    |    |   |    |     |    |
| SPC5 | 14 |     |     |     |     |     |     |    |    |   |    |     |    |
| SPC5 | 17 |     |     |     |     |     |     |    |    |   |    |     |    |
| SPC5 | 18 |     |     |     |     |     |     |    |    |   |    |     |    |
| SPC5 | 22 |     |     |     |     |     |     |    |    |   |    |     |    |
| SPC5 | 24 |     |     |     |     |     |     |    |    |   |    |     |    |
| SPC5 | 25 |     |     |     |     |     |     |    |    |   |    |     |    |
| SPC5 | 26 |     |     |     |     |     |     |    |    |   |    |     |    |
| SPC5 | 27 |     |     |     |     |     |     |    |    |   |    |     |    |
| LTC  | 45 |     |     |     |     |     |     |    |    |   |    |     |    |
| LTS  | 12 |     |     |     |     |     |     |    |    |   |    |     |    |
| LTS  | 16 |     |     |     |     |     |     |    |    |   |    |     |    |
| LTS  | 38 |     |     |     |     |     |     |    |    |   |    |     |    |
| SPS6 | 5  |     |     |     |     |     |     |    |    |   |    |     |    |
| SPS4 | 8  |     |     |     |     |     |     |    |    |   |    |     |    |
| SPS6 | 3  |     |     |     |     |     |     |    |    |   |    |     |    |
| SPS4 | 2  |     |     |     |     |     |     |    |    |   |    |     |    |
| SPS6 | 1  |     |     |     |     |     |     |    |    |   |    |     |    |
| SPS4 | 14 |     |     |     |     |     |     |    |    |   |    |     |    |
| SPS5 | 7  |     |     |     |     |     |     |    |    |   |    |     |    |
| SPS4 | 28 |     |     |     |     |     |     |    |    |   |    |     |    |
| SPS6 | 16 |     |     |     |     |     |     |    |    |   |    |     |    |
| LTC  | 21 |     |     |     |     |     |     |    |    |   |    |     |    |
| SPC6 | 2  |     |     |     |     |     |     |    |    |   |    |     |    |
| SPC6 | 29 |     |     |     |     |     |     |    |    |   |    |     |    |
| STS6 | 28 |     |     |     |     |     |     |    |    |   |    |     |    |

I ceppi sono stati classificati secondo lo schema riportato.

| Disc diffusion method | Zone diameter (mm) |
|-----------------------|--------------------|
| Susceptible           | >20                |
| Intermediate          | 15–19              |
| Resistant             | ≤14                |

doi: 10.5650/jos.ess22052d

doi : 10.1111/jfs.12211

doi : 10.1007/s13205-017-0682-0

Dei 140 ceppi, **solo 39 sono stati impiegati** per le analisi successive.

Le selezione è stata operata sulla base del numero di resistenze riscontrate per ceppo.

**I ceppi resistenti ad un numero > 6 antibiotici, sono stati esclusi.**

Nel grafico a sx sono riportati i risultati del test.

Le **resistenze**, le **suscettibilità intermedie** e le **suscettibilità** sono rappresentate dalle caselle in rosso, giallo e verde, rispettivamente.

## OBIETTIVO 1 (O1)

### AZIONE 1 (A1) - Caratterizzazione microbiologica e chimico-fisica delle materie di scarto

#### O1.3. Studio delle **proprietà antimicrobiche** dei ceppi di lattobacilli (LAB) *in vitro*

I ceppi selezionati sulla base della valutazione del profilo di resistenza agli antibiotici, sono stati studiati per le loro proprietà antimicrobiche mediante il test di diffusione in agar (D. Arrioja-Bretón *et al.*, 2020).

L'attività antimicrobica dei ceppi di LAB è stata valutata contro **6 microrganismi indicatori**.

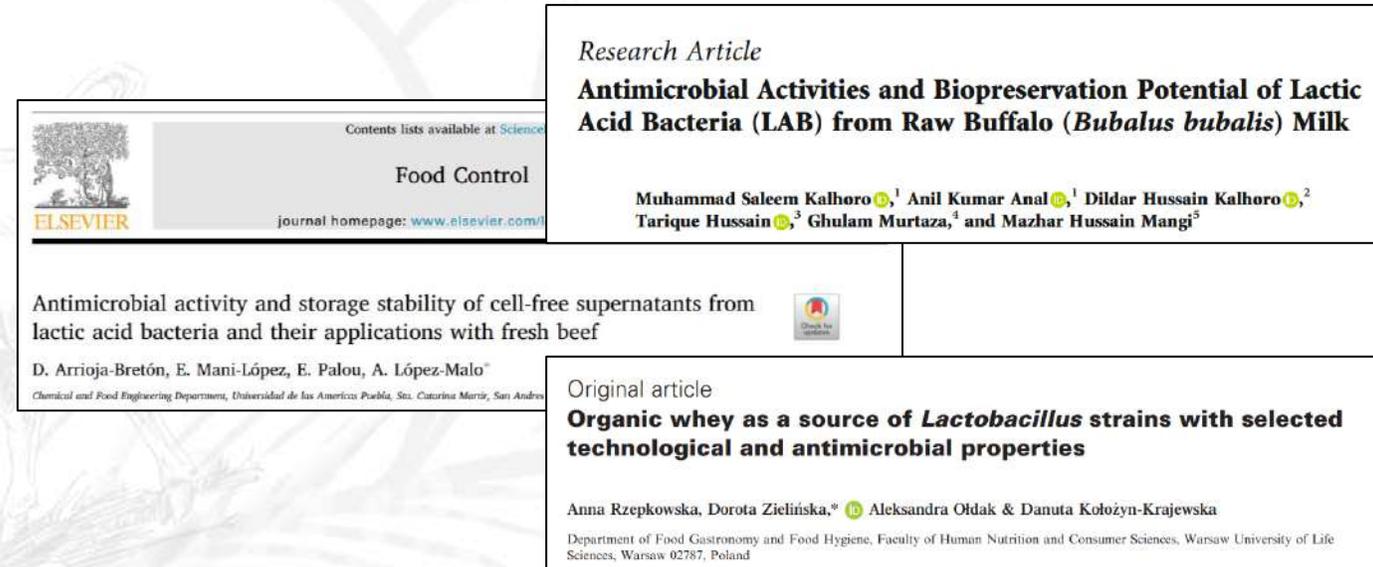
Tutti i ceppi indicatori provengono dalla Colección Española de Cultivos Tipo (CECT)

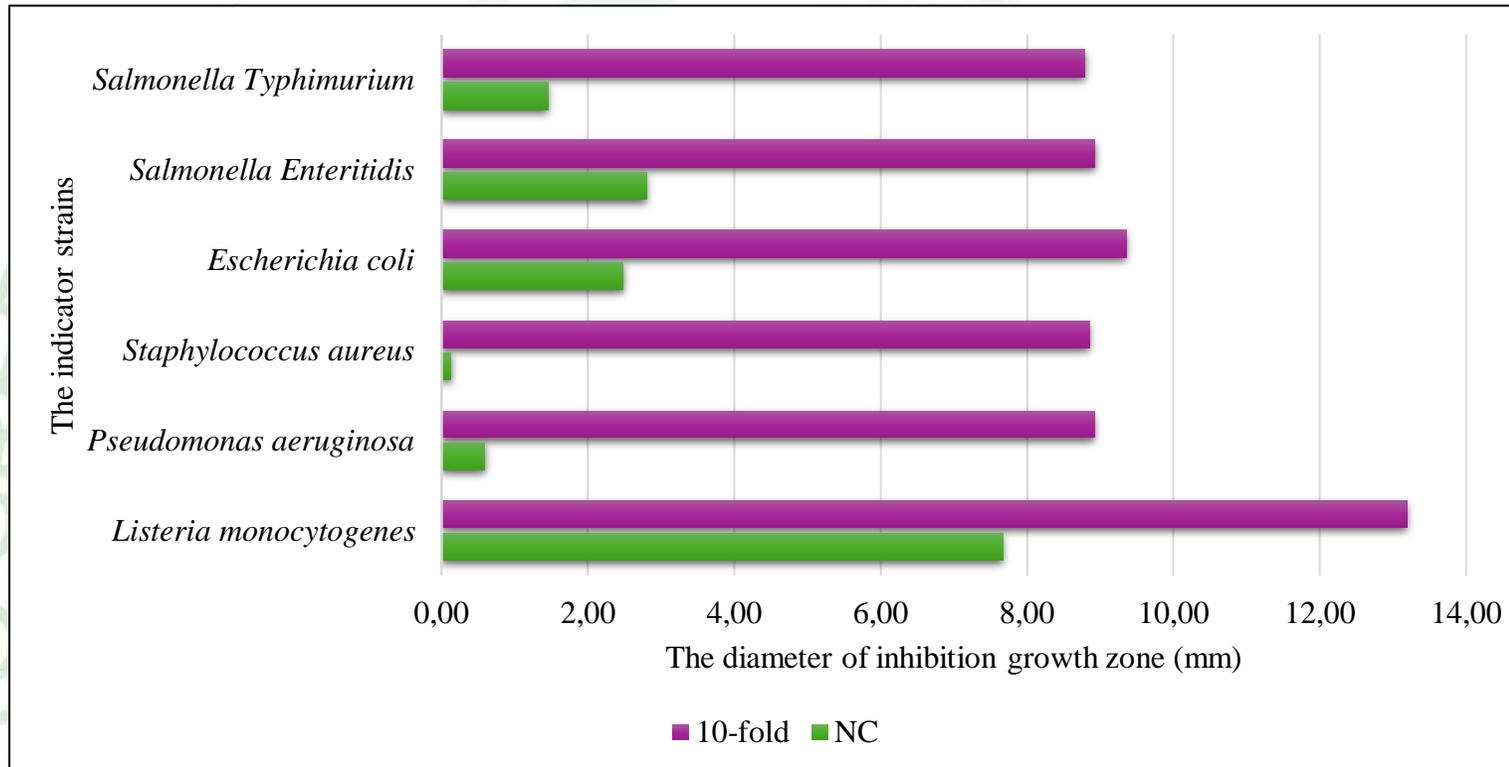
| Indicator strains                        |
|--|
| <i>Listeria monocytogenes</i> ATCC 19114 |
| <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922       |
| <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853 |
| <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 9144   |
| <i>Salmonella</i> Enteritidis ATCC 25928 |
| <i>Salmonella</i> Typhimurium ATCC 14028 |

Le prove sono state effettuate utilizzando i surnatanti privi di cellule (CFS) dei coltivi dei LAB selezionati (**non concentrati, NC e concentrati 10 volte, 10-fold**).

Per **valutare la natura dei composti antimicrobici presenti nei CFS** sono state effettuate analisi su:

1. surnatanti privi di cellule a pH non neutralizzato (**CFS non-adjusted pH**)
2. surnatanti privi di cellule a pH neutralizzati (**CFS a pH 7**) con NaOH 2N





**Diametro medio (mm) delle zone di inibizione generato dai sovranatanti (CFS no-adjusted pH) dei batteri lattici (LAB) isolati da LATTE contro i microrganismi indicatori.**

Dei sei microrganismi indicatori testati, ***L. monocytogenes*** è risultato il più sensibile ai 28 CFS di LAB da latte studiati.

|                               | <i>Lacticaseibacillus paracasei</i> ssp (14.3%) |            | <i>Lactobacillus plantarum</i> (32.14%) |            | <i>Lactobacillus lactis</i> (21.43%) |            | <i>Leuconostoc rhamnosus</i> (25%) |            | <i>Leuconostoc citreum</i> (3.57%) |            | <i>Limosilactobacillus fermentum</i> (3.57%) |            |
|-------------------------------|---|------------|---|------------|--------------------------------------|------------|------------------------------------|------------|------------------------------------|------------|--|------------|
|                               | NC  | 10-fold    | NC                                      | 10-fold    | NC                                   | 10-fold    | NC                                 | 10-fold    | NC                                 | 10-fold    | NC   | 10-fold    |
| <i>Listeria monocytogenes</i> | 7.54±1.20                                       | 15.19±2.18 | 7.33±2.12                               | 14.99±1.11 | 8.14±3.08                            | 12.67±1.80 | 7.62±3.65                          | 10.07±1.38 | 8.33±0.94                          | 13.00±1.20 | 8.00±1.00                                    | 14.43±0.22 |
| <i>Pseudomonas aeruginosa</i> | 0.62±0.86                                       | 9.42±2.14  | 0.76±0.97                               | 9.70±1.75  | 0.27±0.31                            | 7.46±2.33  | 0.47±0.46                          | 8.73±1.81  | 2.33±1.13                          | 9.00±0.97  | 0.00±0.00                                    | 10.00±0.44 |
| <i>Staphylococcus aureus</i>  | 0.00±0.00                                       | 9.54±3.34  | 0.00±0.00                               | 10.05±2.29 | 0.11±0.27                            | 6.80±3.53  | 0.43±0.57                          | 8.26±1.87  | 0.00±1.80                          | 8.33±1.49  | 0.00±0.00                                    | 12.33±0.20 |
| <i>Escherichia coli</i>       | 2.66±1.36                                       | 8.62±2.18  | 3.55±1.33                               | 8.70±1.87  | 1.88±1.42                            | 9.17±3.87  | 1.41±1.93                          | 10.87±1.63 | 3.00±1.29                          | 8.17±1.21  | 2.67±0.57                                    | 10.00±0.22 |
| <i>Salmonella Enteritidis</i> | 2.91±0.79                                       | 9.32±2.00  | 3.38±0.91                               | 9.67±1.79  | 2.61±2.10                            | 8.43±2.30  | 1.95±1.93                          | 7.93±1.63  | 3.00±0.19                          | 9.00±0.34  | 4.00±1.00                                    | 10.67±0.80 |
| <i>Salmonella Typhimurium</i> | 2.91±0.72                                       | 9.42±1.75  | 1.78±1.64                               | 9.36±1.62  | 1.44±0.91                            | 8.17±2.19  | 0.57±1.93                          | 7.98±2.11  | 1.67±0.85                          | 8.60±0.91  | 2.33±0.57                                    | 10.67±0.71 |

Calculate the Antimicrobial activity (x) as follows:  $x = D - d$ , where D (inhibition zone diameter) and d (well diameter).

## Effetto inibitorio dei CFS (pH non neutralizzato) dei LAB isolati da siero contro batteri Gram-positivi e Gram-negativi

| LAB  | <i>Listeria monocytogenes</i> |         | <i>Pseudomonas aeruginosa</i> |         | <i>Staphylococcus aureus</i> |         | <i>Escherichia coli</i> |         | <i>Salmonella Enteritidis</i> |         | <i>Salmonella Typhimurium</i> |         |
|--|-------------------------------|---------|-------------------------------|---------|------------------------------|---------|-------------------------|---------|-------------------------------|---------|-------------------------------|---------|
|  | NC                            | 10-fold | NC                            | 10-fold | NC                           | 10-fold | NC                      | 10-fold | NC                            | 10-fold | NC                            | 10-fold |
| Lactococcus lactis_STC 3   | 10.17                         | 14.00   | 2.83                          | 10.33   | 3.00                         | 9.33    | 5.67                    | 9.60    | 4.41                          | 8.67    | 4.33                          | 8.00    |
| Lactococcus lactis_STC 5   | 3.33                          | 16.17   | 0.00                          | 11.33   | 2.00                         | 11.33   | 3.67                    | 8.33    | 1.33                          | 10.00   | 2.00                          | 9.00    |
| Lactococcus lactis_SPC 18  | 0.00                          | 4.00    | 0.00                          | 0.33    | 0.00                         | 1.67    | 0.00                    | 0.00    | 0.00                          | 0.67    | 0.00                          | 0.67    |
| Lactococcus lactis_SPC 22  | 0.00                          | 4.00    | 0.00                          | 0.58    | 0.00                         | 1.00    | 0.00                    | 0.00    | 0.00                          | 2.67    | 0.00                          | 2.00    |
| Lactococcus lactis_SPC 27  | 0.00                          | 3.33    | 0.00                          | 1.00    | 0.00                         | 1.33    | 0.00                    | 0.00    | 0.00                          | 1.33    | 0.00                          | 2.00    |
| <b>Limosilactobacillus fermentum_SPC 2</b>                               | 0.00                          | 10.67   | 0.00                          | 3.33    | 0.00                         | 5.00    | 0.00                    | 3.67    | 0.00                          | 1.67    | 0.00                          | 2.33    |
| Limosilactobacillus fermentum_SPC 29                                     | 0.00                          | 7.00    | 0.00                          | 4.67    | 0.00                         | 5.67    | 0.00                    | 5.33    | 0.00                          | 2.00    | 0.00                          | 3.33    |
| Lactococcus lactis ssp tructae_SPS 2                                     | 0.67                          | 8.67    | 0.00                          | 6.67    | 0.00                         | 6.67    | 0.00                    | 7.00    | 0.33                          | 5.33    | 0.00                          | 5.50    |
| <b>Lactococcus lactis ssp tructae_SPS 1</b>                              | 0.00                          | 8.33    | 0.33                          | 6.00    | 0.00                         | 7.00    | 0.00                    | 7.00    | 0.00                          | 5.33    | 0.00                          | 6.33    |
| <b>Lactococcus lactis ssp cremoris_SPS 8 (attività pH7)</b>              | 6.23                          | 10.67   | 0.33                          | 5.67    | 0.00                         | 5.83    | 0.00                    | 3.67    | 0.33                          | 4.33    | 0.67                          | 4.67    |
| Lactococcus lactis ssp cremoris_SPS 3                                    | 0.00                          | 8.67    | 0.33                          | 6.33    | 0.00                         | 5.67    | 0.00                    | 3.67    | 0.33                          | 3.33    | 0.00                          | 6.97    |
| <b>Lactococcus lactis ssp cremoris_SPS 5</b>                             | 0.00                          | 9.33    | 0.00                          | 7.33    | 0.00                         | 7.67    | 0.00                    | 7.33    | 0.33                          | 6.33    | 0.00                          | 6.11    |
| <b>Leuconostoc mesenteroides ssp mesenteroides_SPS 14 (attività pH7)</b> | 5.67                          | 9.83    | 0.33                          | 6.33    | 0.00                         | 6.67    | 0.00                    | 2.00    | 0.33                          | 4.00    | 0.33                          | 5.10    |
| <b>Leuconostoc mesenteroides ssp mesenteroides_SPS 28 (attività pH7)</b> | 5.17                          | 10.33   | 0.33                          | 5.00    | 0.00                         | 3.33    | 0.00                    | 3.00    | 0.33                          | 3.67    | 0.00                          | 4.33    |
| Leuconostoc mesenteroides ssp mesenteroides_SPS 7                        | 4.33                          | 4.00    | 0.67                          | 0.00    | 0.00                         | 5.67    | 0.00                    | 5.67    | 0.33                          | 4.33    | 2.00                          | 4.83    |
| <b>Leuconostoc mesenteroides ssp mesenteroides_SPS 16</b>                | 0.00                          | 6.67    | 0.00                          | 4.67    | 0.00                         | 4.00    | 0.00                    | 7.33    | 0.00                          | 4.33    | 0.00                          | 4.50    |
| <b>Micrococcus luteus_STS 28</b>   | 0.00                          | 5.67    | 0.00                          | 0.00    | 0.00                         | 4.67    | 0.00                    | 5.33    | 0.00                          | 5.33    | 0.00                          | 5.83    |

The different degree of growth inhibition is expressed in mm as the mean of three replicates

### Effetto inibitorio dei CFS (pH 7) dei LAB isolati da siero

|   | <i>Listeria monocytogenes</i> |         |
|---|-------------------------------|---------|
|   | NC                            | 10-fold |
| <b>Lactococcus lactis ssp cremoris_SPS 8</b>              | 13.00                         | 16.33   |
| <b>Leuconostoc mesenteroides ssp mesenteroides_SPS 14</b> | 12.93                         | 16.00   |
| <b>Leuconostoc mesenteroides ssp mesenteroides_SPS 28</b> | 12.33                         | 16.10   |

**3 ceppi di LAB** hanno mantenuto la loro attività antimicrobica a pH 7 contro *Listeria monocytogenes*

**5 ceppi di LAB** hanno mantenuto la loro attività antimicrobica a pH 7 contro *Staphylococcus aureus*

|   | <i>Staphylococcus aureus</i> |         |
|---|------------------------------|---------|
|   | NC                           | 10-fold |
| <b>Limosilactobacillus fermentum_SPC 2</b>                | 0.00                         | 11.00   |
| <b>Lactococcus lactis ssp tructae_SPS 1</b>               | 0.00                         | 10.10   |
| <b>Lactococcus lactis ssp cremoris_SPS 5</b>              | 0.00                         | 11.60   |
| <b>Leuconostoc mesenteroides ssp mesenteroides_SPS 16</b> | 0.00                         | 9.30    |
| <b>Micrococcus luteus_STS 28</b>                          | 0.00                         | 9.60    |



## Identificazione molecolare dei ceppi LAB con attività antimicrobica

Il DNA dei LAB negativi al test della proteinasi K è stato estratto con un kit d'estrazione e preparato per il sequenziamento con l'ausilio del **MinION nanopore**.

Il genoma è stato studiato per valutare la presenza di **geni di resistenza agli antibiotici** (<http://genepi.food.dtu.dk/resfinder>) e **batteriocine** prodotte (BAGEL04\_ <http://bagel4.molgenrug.nl/index.php> ).

- ✓ Tutti i ceppi non hanno presentato geni di resistenza agli antibiotici
- ✓ **LTC 44\_ *Lactobacillus plantarum*** – individuata la **PEDIOCINA**

**Antibacterial Activity of Pediocin and  
Pediocin-Producing Bacteria Against  
*Listeria monocytogenes* in Meat  
Products**

Nasim Khorshidian<sup>1</sup>, Elham Khanniri<sup>1</sup>, Mehrdad Mohammadi<sup>1</sup>, Amir M. Mortazavian<sup>2</sup>  
and Mojtaba Yousefi<sup>1\*</sup>

## OBIETTIVO 1 (O1)

### AZIONE 1 (A1) - Caratterizzazione microbiologica e chimico-fisica delle materie di scarto

#### O1.4. Studio delle **proprietà antiossidanti** dei LAB *in vitro*

I 21 ceppi potenzialmente **protecnologici selezionati** sulla base della valutazione dell'attività antimicrobica dimostrata e dei test per valutare l'attività emolitica, saranno studiati per le loro proprietà antiossidanti.

Le prove saranno effettuate su:

1. surnatanti di coltivi di LAB privi di cellule (CFS)
2. Estratto intracellulare dei coltivi di LAB (CFE)

Le analisi che saranno svolte sono le seguenti:

***Resistance to hydrogen peroxide***

***Scavenging of hydroxyl radical***

***Scavenging of DPPH-Free Radical***

***Ferric-Reducing Antioxidant Power (FRAP)***

***Total antioxidant capacity (TAC) test***



Contents lists available at ScienceDirect

Food Control

journal homepage: [www.elsevier.com/locate/foodcont](http://www.elsevier.com/locate/foodcont)

Effective enhancement of food oxidative stability induced by *Lactobacillus* strains: *In vitro* activity

Fatemeh Ghiasi<sup>a,\*</sup>, Seyed Mohammad Bagher Hashemi<sup>b,\*\*\*</sup>, Elahe Abedi<sup>b,\*</sup>

<sup>a</sup> Department of Food Science and Technology, School of Agriculture, Shiraz University, Shiraz, Iran  
<sup>b</sup> Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, Fasa University, Fasa, Iran



Contents lists available at SciVerse ScienceDirect

Food Chemistry

journal homepage: [www.elsevier.com/locate/foodchem](http://www.elsevier.com/locate/foodchem)

Antioxidant activity of *Lactobacillus plantarum* strains isolated from traditional Chinese fermented foods

Shengyu Li<sup>a</sup>, Yujuan Zhao<sup>a</sup>, Li Zhang<sup>a,b</sup>, Xue Zhang<sup>a</sup>, Li Huang<sup>a</sup>, Da Li<sup>a</sup>, Chunhua Niu<sup>a</sup>, Zhennai Yang<sup>a,b,c,\*</sup>, Qiang Wang<sup>d,\*</sup>

## OBIETTIVO 2 (O2)

### AZIONE 1 (A1) - Caratterizzazione microbiologica e chimico-fisica delle materie di scarto

**O2.1. Estrazione dei lipidi totali** da latte (GDO e LOC), siero (GDO e LOC), scotta (GDO e LOC) e latticello di latte di bufala.

**O2.2. Determinazione e quantificazione delle classi di fosfolipidi PL** mediante cromatografia liquida ad alta pressione con evaporative light scattering detector (HPLC-ELDS).

|            | Latte LOC_AZ A | Siero LOC_AZ A | Latte LOC_AZ B | Siero LOC_AZ B |
|------------|----------------|----------------|----------------|----------------|
| PI         | 6.34           | 224.77         | 7.49           | 157.78         |
| PE         | 33.06          | 836.93         | 19.89          | 636.26         |
| PS         | 7.62           | 103.90         | 10.61          | 347.47         |
| PC         | 17.62          | 727.91         | 12.87          | 545.53         |
| SM         | 13.95          | 693.52         | 10.92          | 414.17         |
| <b>tot</b> | <b>78.59</b>   | <b>2587.03</b> | <b>61.78</b>   | <b>2101.22</b> |

I processi tecnologici del latte influenzano sicuramente il profilo dei fosfolipidi (PLs) sulla membrana dei globuli di grasso (MFGM) causando una riorganizzazione tra la membrana e il siero del latte.



Pertanto, le quantità delle principali classi, come PE, PC e SM, sono state influenzate dai diversi passaggi di lavorazione.

|            | Latte GDO_AZ A | Siero GDO_AZ A | Latte GDO_AZ B | Siero GDO_AZ B |
|------------|----------------|----------------|----------------|----------------|
| PI         | 5.94           | 122.61         | 8.43           | 99.99          |
| PE         | 26.01          | 414.30         | 27.13          | 341.51         |
| PS         | 7.23           | 266.44         | 13.77          | 275.34         |
| PC         | 15.71          | 410.89         | 16.99          | 340.67         |
| SM         | 14.67          | 304.80         | 14.66          | 253.54         |
| <b>tot</b> | <b>69.56</b>   | <b>1519.05</b> | <b>80.98</b>   | <b>1311.04</b> |

phosphatidylcholine (PC), phosphatidylethanolamine (PE), phosphatidylinositol (PI), phosphatidylserine (PS), sphingomyelin (SM)

GDO, proveniente dalla lavorazione destinata alle vendite per la grande distribuzione organizzata (Latte pastorizzato 75°C x 15'')

LOC, proveniente dalla lavorazione destinata alla vendita locale (latte termizzato 64°C x 15'')

**OBIETTIVO 2 (O2)**

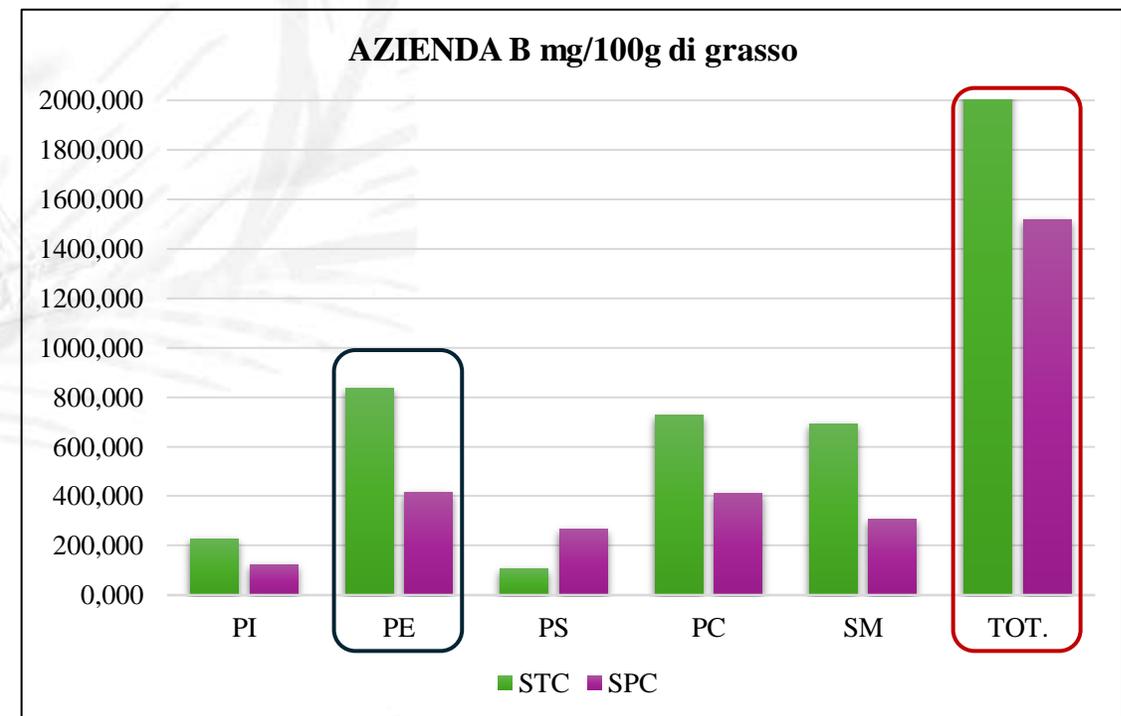
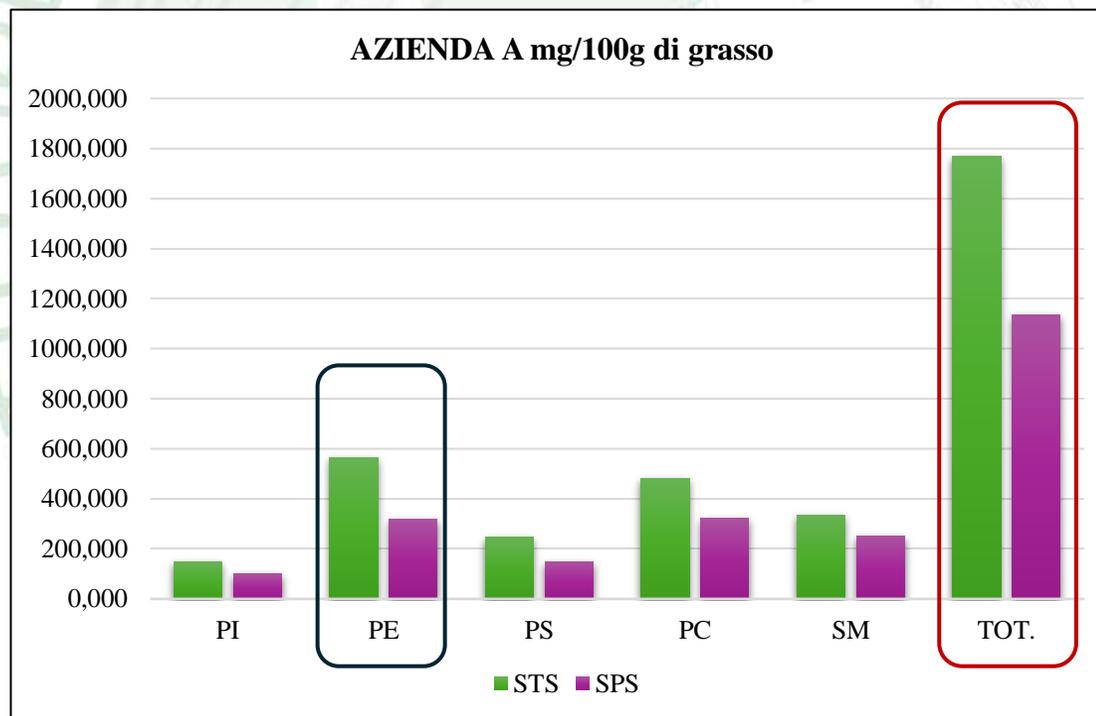
**AZIONE 1 (A1) - Caratterizzazione microbiologica e chimico-fisica delle materie di scarto**

**O2.1. Estrazione dei lipidi totali** da latte (GDO e LOC), siero (GDO e LOC), scotta (GDO e LOC) e latticello di latte di bufala.

**O2.2. Determinazione e quantificazione delle classi di fosfolipidi PL** mediante cromatografia liquida ad alta pressione con evaporative light scattering detector (HPLC-ELDS).

Il processo termico non ha influenzato in modo significativo i PL del latte.

Il siero di latte LOC (STS e STC) ha mostrato una maggiore concentrazione di PL totali.



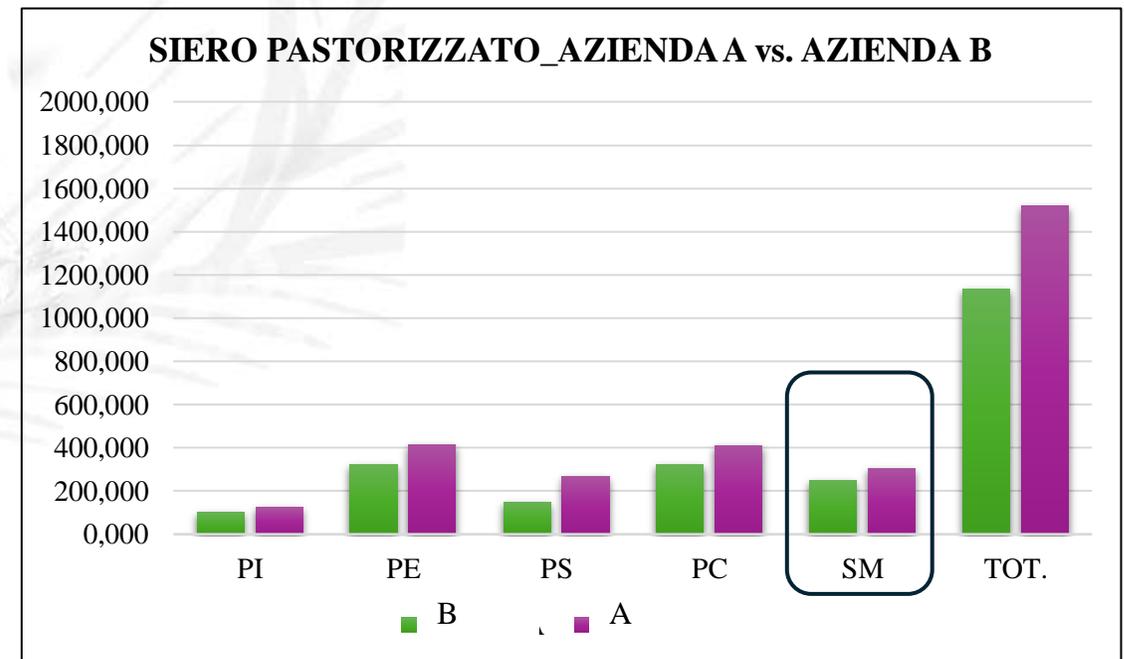
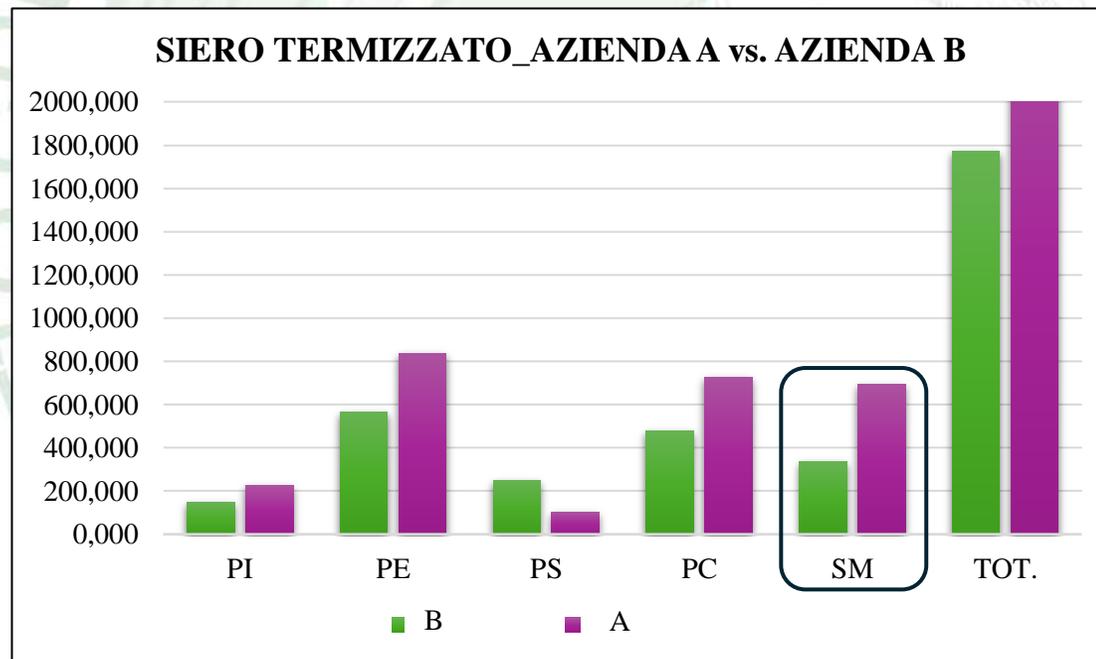
phosphatidylcholine (PC), phosphatidylethanolamine (PE), phosphatidylinositol (PI), phosphatidylserine (PS), sphingomyelin (SM)

**OBIETTIVO 2 (O2)**

**AZIONE 1 (A1) - Caratterizzazione microbiologica e chimico-fisica delle materie di scarto**

**O2.2. Determinazione e quantificazione delle **classi di fosfolipidi PL** mediante cromatografia liquida ad alta pressione con evaporative light scattering detector (HPLC-ELDS).**

L'azienda A ha presentato un tenore di PL superiore all'azienda B, con un tenore di SM più elevato in A.

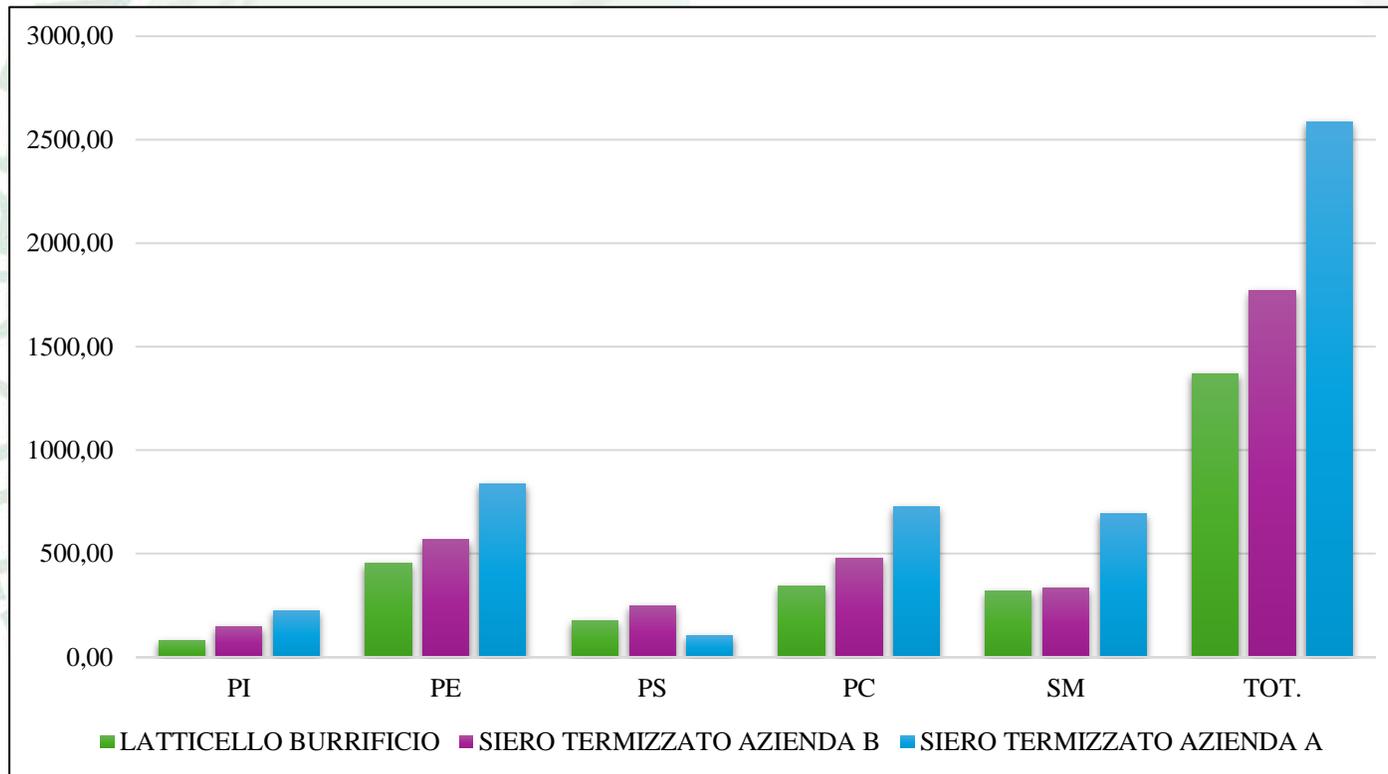


phosphatidylcholine (PC), phosphatidylethanolamine (PE), phosphatidylinositol (PI), phosphatidylserine (PS), sphingomyelin (SM)

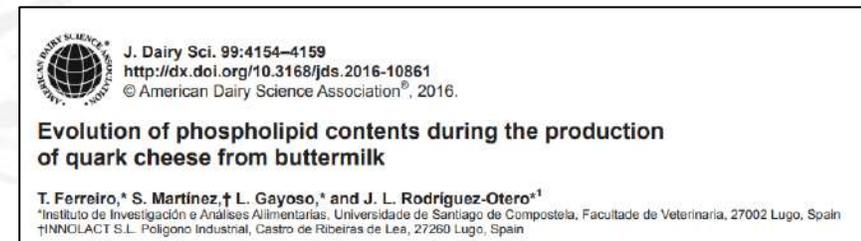
**OBIETTIVO 2 (O2)**

**AZIONE 1 (A1) - Caratterizzazione microbiologica e chimico-fisica delle materie di scarto**

**O2.2. Determinazione e quantificazione delle classi di fosfolipidi PL mediante cromatografia liquida ad alta pressione con evaporative light scattering detector (HPLC-ELDS).**



phosphatidylcholine (PC), phosphatidylethanolamine (PE), phosphatidylinositol (PI), phosphatidylserine (PS), sphingomyelin (SM)



Il **latticello** pur non mostrando il più alto contenuto di PLs, facendo un bilancio di materia grassa aziendale, risulta essere il migliore scarto di lavorazione per la preparazione dell'ingrediente funzionalizzato.

## AZIONE 2 (A2) – Preparazione e caratterizzare degli ingredienti funzionalizzati e sviluppo di prodotti di latte di bufala funzionalizzati

### **OBIETTIVO 1 (O1)**

#### **O1.1. Preparazione colture starter a diverse concentrazioni.**

- Isolamento e coltivazione dei ceppi *Lactobacillus* selezionati da siero e/o latte.
- Diluizione e preparazione delle colture starter.

#### **O1.2. Preparazione di prodotti di latte di bufala potenzialmente probiotici.**

- Valutazione della concentrazione minima da inoculare ( $10^9$  CFU/ml).
- Arricchimento dei prodotti di latte di bufala aziendali.

#### **1.3 Quantità di microrganismi**

Sulla base delle evidenze scientifiche disponibili la quantità minima sufficiente per ottenere una temporanea colonizzazione dell'intestino da parte di un ceppo microbico è di almeno  $10^9$  cellule vive per giorno. La porzione di prodotto raccomandata per il consumo giornaliero deve quindi contenere una quantità pari a  $10^9$  cellule vive per almeno uno dei ceppi presenti. L'uso di quantità inferiori può essere consentito solo se adeguati studi scientifici supportano comunque, per il ceppo in questione, la capacità di colonizzare a livello intestinale.

La quantità di cellule vive presenti nel prodotto deve essere riportata in etichetta per ogni ceppo e deve essere garantita, con le modalità di conservazione suggerite, fino al termine della shelf-life, con una incertezza di 0,5 log.

Si precisa che i metodi di analisi più adatti per quantificare i microrganismi vivi possono essere diversi per ogni specie.



I ceppi selezionati per le loro attività antimicrobiche e antiossidanti saranno utilizzati come **inoculi** per la preparazione di formaggi a latte di bufala funzionali.

## AZIONE 2 (A2) – Preparazione e caratterizzare degli ingredienti funzionalizzati e sviluppo di prodotti di latte di bufala funzionalizzati

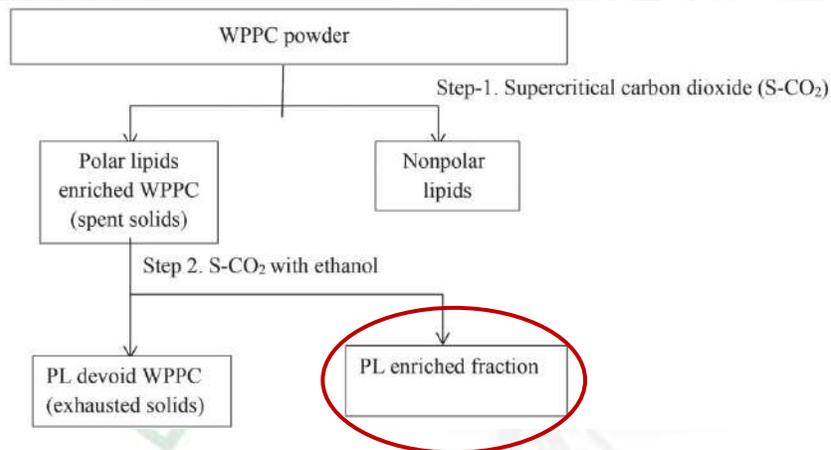
### OBIETTIVO 2 (O2)

#### O2.1. Produzione di concentrato di fosfolipidi ad alta purezza dal latticello e/o dal siero.

- Estrazione PL da scarti di lavorazione selezionati mediante estrazione con fluidi supercritici (CO<sub>2</sub>)
- Caratterizzazione e preparazione dei concentrati di PL da inoculare.

#### O2.2. Preparazione di prodotti di latte di bufala funzionalizzati con PL.

- Valutazione della concentrazione minima da inoculare.
- Arricchimento dei prodotti di latte di bufala aziendali.



COMPREHENSIVE REVIEW

Journal of  
Food Process Engineering

WILEY

Application of supercritical fluid extraction for extraction or enrichment of phospholipids in egg and dairy products: A review

Rajesh Krishnegowda  | Menon Rekha Ravindra | Monika Sharma 



J. Dairy Sci. 102:10855–10866

<https://doi.org/10.3168/jds.2019-16419>

© American Dairy Science Association®, 2019.

Selective extraction of phospholipids from whey protein phospholipid concentrate using supercritical carbon dioxide and ethanol as a co-solvent

B. Sprick,<sup>1</sup> Z. Linghu,<sup>1</sup> J. K. Amamcharla,<sup>1,2\*</sup> L. E. Metzger,<sup>3</sup> and J. S. Smith<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Food Science Institute, Kansas State University, Manhattan 66506

<sup>2</sup>Department of Animal Sciences and Industry, Kansas State University, Manhattan 66506

<sup>3</sup>Department of Dairy and Food Science, Midwest Dairy Foods Research Center, South Dakota State University, Brookings 57007

## **AZIONE 3 (A3) - Valutazione della *shelf life* e delle caratteristiche degli alimenti funzionalizzati.**

### ***OBIETTIVO 1 (O1) - OBIETTIVO 2 (O2)***

**O1.1. Valutazione microbiologica e fisico-chimica di prodotti di latte di bufala potenzialmente probiotici.**

**O2.1. Valutazione microbiologica e fisico-chimica di prodotti di latte di bufala funzionalizzati con PL.**

- Analisi microbiologiche e determinazione del tenore in batteri lattici autoctoni prima e dopo starter.
- Valutazione della biodisponibilità e determinazione della *shelf life* come TMC.
- Valutazione della stabilità ossidativa.
- Analisi chimico-fisiche nutrizionali e reologiche.
- Analisi sensoriali.

\* Le analisi sono da intendersi su campioni controllo e funzionalizzati.

## AZIONE 4 (A4) - Elaborazione dei dati ed ottimizzazione degli alimenti funzionalizzati

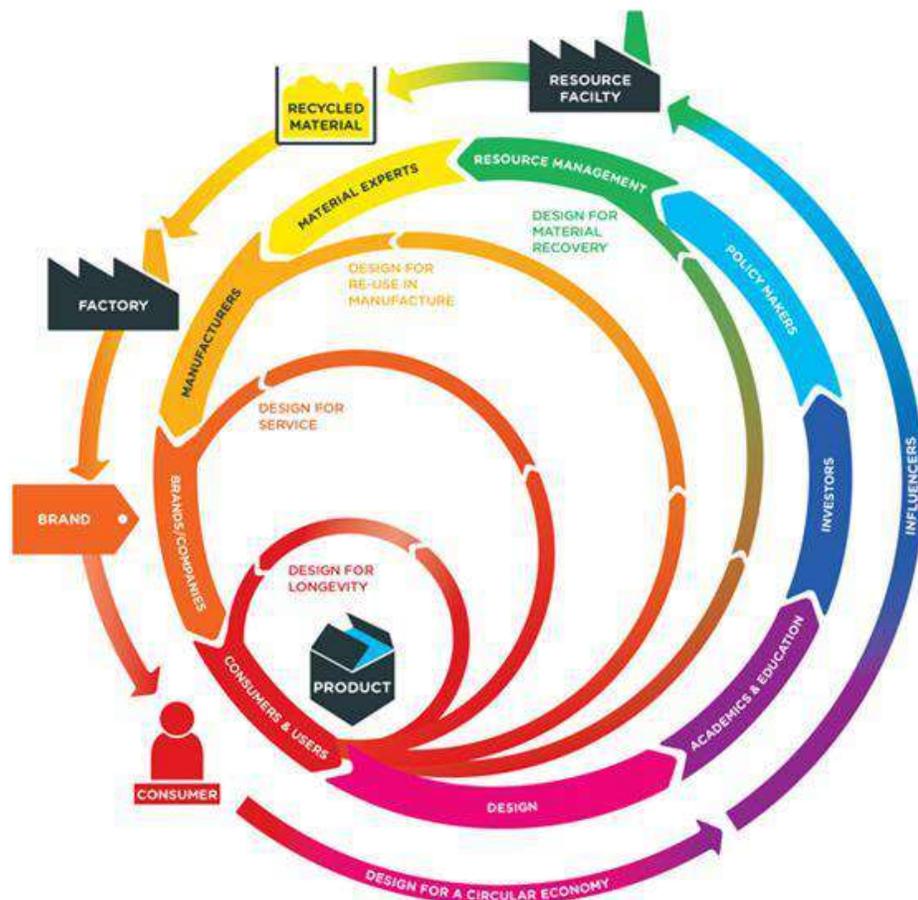
Il progetto aprirà la strada allo **studio**, alla **valorizzazione** e all'**ottimizzazione** di nuovi alimenti funzionali arricchiti



possibile **collocazione sul mercato** intercettando l'esigenza e i bisogni di varie dimensioni industriali al fine di poter adottare specifiche soluzioni in ambito di transizione sostenibile.

PROGETTO GREENBUI

## RISULTATI ATTESI



- Potenzialità delle materie di scarto dell'industria lattiero casearia bufalina (siero e latticello);
- Ottenere ingredienti funzionalizzati per la realizzazione di prodotti di latte di bufala funzionalizzati;
- Messa a punto e successiva validazione e ottimizzazione di nuovi prodotti lattiero caseari bufalini funzionalizzati.





*Dr.ssa Povolo*



*Lhica*  
*Prof. Carlos Franco Abuin*



*Prof. Raffaele Romano*



THANK YOU