

ALMA MATER STUDIORUM - UNIVERSITÀ DI BOLOGNA

DIPARTIMENTO DI SCIENZE E TECNOLOGIE AGRO-ALIMENTARI

CAMPUS DI CESENA

CORSO DI LAUREA IN TECNOLOGIE ALIMENTARI

TITOLO DELLA TESI

**PRODUZIONE DI INGREDIENTI ALIMENTARI DA SCARTI E
SOTTOPRODOTTI DELL'INDUSTRIA LATTIERO – CASEARIA**

TESI IN

*82298 - VALORIZZAZIONE DEI SOTTOPRODOTTI DELL'INDUSTRIA
ALIMENTARE*

Relatore:

Prof.ssa Rosalba Lanciotti

Candidata:

Chiara Dal Pozzo

Correlatore:

Dott. Lorenzo Siroli

Matricola N° 843513

Anno Accademico 2019/2020

Sessione unica

INDICE

1. INTRODUZIONE – Sottoprodotti e scarti dell’industria alimentare	1
2. SCOPO	4
3. LA FILIERA LATTIERO CASEARIA – Visione nazionale ed europea	5
3.1 Sottoprodotti	7
4. SIERO DI LATTE	9
4.1 Storia, produzione ed utilizzazione del siero	9
4.2 Composizione del siero di latte	12
4.2.1 Il lattosio del siero	13
4.2.2 I minerali e le vitamine del siero	14
4.2.3 Le proteine del siero	15
4.2.3.1 Proprietà nutrizionali, funzionali e biomediche delle sieroproteine	16
4.2.3.2 Effetto della temperatura sulle proteine del siero	18
4.2.4 I peptidi bioattivi nel siero di latte	19
4.3 Contaminanti chimici e biologici del siero	20
4.3.1 Regolamenti e ISO per le analisi del siero	21
4.3.2 Metalli con effetti tossici nel siero	22
5. STRATEGIE DI GESTIONE E RECUPERO DEL SIERO	23
5.1 Processi tradizionali di trattamento del siero	24
5.2 Trattamenti biologici	25
5.2.1 Estrazione dei peptidi bioattivi dal siero	27
5.2.2 Idrolisi enzimatica del lattosio	28
5.3 Trattamenti chimici	29
5.4 Trattamenti fisici	31
5.4.1 Separazioni su membrana	31
5.4.1.1 Cristallizzazione del lattosio	38
6. UTILIZZI INDUSTRIALI E/O DOMESTICI DEL SIERO E DEI PRODOTTI DA ESSO ESTRATTI	40
7. CASO STUDIO	48
8. CONCLUSIONI	52
9. BIBLIOGRAFIA, SITOGRAFIA E REGOLAMENTI	54

1. INTRODUZIONE – Sottoprodotti e scarti dell'industria alimentare

A causa della crescita demografica riscontrata negli ultimi anni e dei continui cambiamenti della domanda dei consumatori, in base alle mutazioni dello stile di vita di questi, c'è stato un notevole incremento del numero di industrie di trasformazione alimentare.

L'ampliamento della produzione di alimenti a base di carne, di prodotti da forno e farinacei, preparazioni RTE (Ready to Eat), prodotti lattiero-caseari, enologici, etc. ha portato ad un aumento di scarti e sottoprodotti e quindi ad un enorme spreco di risorse.

Vengono definiti "Waste" qualsiasi sostanza od oggetto di cui il detentore si disfi o abbia l'intenzione o l'obbligo di disfarsi, più specificatamente il "Food Waste" è lo spreco (o scarto) che viene prodotto in fase di trasformazione industriale, distribuzione e consumo finale, mentre i "Food Losses" sono le perdite alimentari qualitative e quantitative che si hanno durante la fase di produzione agricola, post-raccolta e trasformazione degli alimenti. I primi spesso dipendono da limiti tecnici e strutturali della trasformazione, produzione e dei sistemi distributivi, da aspetti legati alle eccedenze di acquisti da parte del consumatore ed errori nella conservazione degli alimenti, sempre più diffusi nei paesi industrializzati. I secondi invece dipendono da limiti delle tecniche agricole e dalle infrastrutture, fattori climatici ed ambientali o surplus produttivi e dal mancato rispetto degli standard di produzione e conservazione, questi sono invece più diffusi nei paesi in via di sviluppo.

Nella maggior parte delle legislazioni europee la produzione di residui viene definita come produzione di rifiuti, ma negli ultimi anni sono stati identificati anche i "By-products" ovvero i sottoprodotti: prodotti che si formano durante la trasformazione, non utilizzati direttamente come risorsa da chi li ottiene. Hanno una significativa importanza in quanto i sottoprodotti potrebbero ancora contenere sostanze con un elevato valore aggiunto, ed elevato valore di mercato che possono essere utilizzate e/o trasformate in prodotti "utili". Può non essere considerato un rifiuto, ma un sottoprodotto solo se soddisfa determinate condizioni (Figura. 1): deve essere certo un suo ulteriore utilizzo, può essere utilizzato direttamente senza alcun trattamento, l'utilizzo di questo deve essere legale, ovvero il prodotto deve soddisfare tutti i requisiti riguardanti la salvaguardia della salute e dell'ambiente e deve essere

prodotto come parte integrante di un processo di produzione (Decreto Ministeriale 13 ottobre 2016, n. 264).

Scarti e sottoprodotti provenienti da vari settori dell'industria alimentare possono essere suddivisi in due principali gruppi e sette sotto-categorie (Galanakis, 2012):

1. Origine animale:

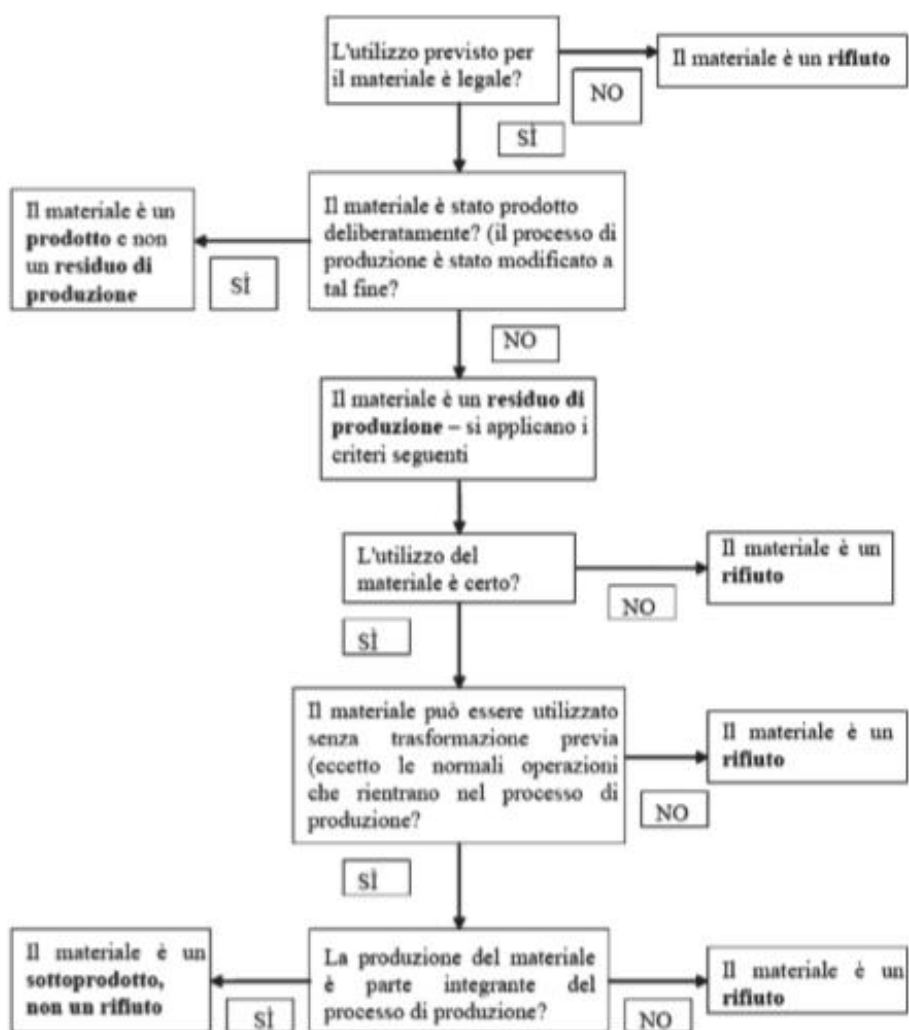
- Prodotti a base di carne 20%
- Pesce e frutti di mare 30%
- Prodotti lattiero caseari 20%

2. Origine vegetale:

- Cereali 30%
- Radici e tuberi 45%
- Colture da olio e legumi 20%
- Frutta e verdura 45%

Il contenuto considerevole di sostanze nutritive presente nei sottoprodotti li rende un argomento importante per un'attenta valorizzazione. La valorizzazione ci permette di riutilizzare eventuali nutrienti presenti, incrementando potenziali guadagni e riducendo l'impatto ambientale della produzione alimentare a livello industriale. I fattori scatenanti che hanno sensibilizzato la gestione sostenibile e valorizzazione dei sottoprodotti a livello globale sono stati le stringenti normative ambientali e le crescenti preoccupazioni verso l'ambiente, l'utilizzo sostenibile delle risorse naturali attraverso lo sviluppo economico e i costi di smaltimento dei rifiuti. I by products sono stati presi in considerazione, anche se contengono fattori sfavorevoli che fungono da barriere per la lavorazione di questi prodotti come un elevato contenuto di acqua che ha un effetto importante sui costi di trasporto, sull'attività microbica ed enzimatica. Tutti questi elementi rendono i by products facilmente deperibili e soggetti a deterioramento e in caso di elevato contenuto di grassi sono anche suscettibili ad ossidazioni.

Figura 1. Diagramma decisionale per l'assegnazione del termine "sottoprodotto" o "rifiuto" secondo la legislazione. (<http://www.compost.it/>)



La gestione e la valorizzazione dei “food loss”, “food waste” e “by-product” ha attirato l’attenzione di ricercatori e delle industrie alimentari per ridurre l’impatto ambientale, per la riduzione dell’utilizzo delle risorse primarie, per un utilizzo più efficace delle risorse naturali ed una riduzione dei rifiuti alimentari destinati alle discariche.

La tematica è risultata di fondamentale importanza tanto che nel luglio 2014 la CE ha emanato alcuni obiettivi e norme per la gestione e la prevenzione dei rifiuti che mira ad una costante ricerca di sostenibilità delle produzioni, recupero di scarti e

sottoprodotti ed ottimizzazione delle risorse, ponendosi come obiettivo la riduzione dei rifiuti alimentari almeno del 30% tra il 1 gennaio 2017 e il 31 dicembre 2025.

Più specificatamente i prodotti lattiero caseari sono contingentati nel REGOLAMENTO (CE) n. 1069/2009 DEL PARLAMENTO EUROPEO E DEL CONSIGLIO del 21 ottobre 2009 recante norme sanitarie relative ai sottoprodotti di origine animale e ai prodotti derivati non destinati al consumo umano, che abroga il regolamento (CE) n. 1774/2002 (regolamento sui sottoprodotti di origine animale) il quale sottolineava che tali prodotti potessero essere destinati all'alimentazione degli animali di allevamento attraverso l'adozione di misure specifiche per la raccolta, il trasporto e l'utilizzo degli stessi, al fine di ridurre al minimo il pericolo di malattie trasmissibili e di rifiuti.

2. SCOPO

L'industria lattiero-casearia è suddivisa in diversi settori, che sono associati alla produzione di acque reflue altamente inquinanti. Questi effluenti hanno caratteristiche diverse, a seconda del prodotto ottenuto (yogurt, formaggio, burro, latte, gelato, ecc.).

Tra i parametri chiave che caratterizzano questi sottoprodotti, gli effluenti lattiero-caseari mostrano un carico organico relativamente elevato, monitorato da BOD (domanda biologica di ossigeno) e COD (domanda chimica di ossigeno) nell'intervallo di $0,1-100 \text{ kg m}^{-3}$ con un indice di biodegradabilità (BOD5/COD) tipicamente compreso tra 0,4 e 0,8. Il contenuto di sostanza organica è dovuto principalmente alla presenza di carboidrati del latte e proteine quali lattosio e caseina, rispettivamente. Inoltre, anche il contenuto di grassi ($0,1-10,6 \text{ kg m}^{-3}$), di solidi sospesi ($0,1-22 \text{ kg m}^{-3}$) e di sostanze nutritive (N e P) contribuiscono ai livelli di contaminazione. La natura mutevole degli effluenti del latte rende il trattamento un compito difficile. Senza un trattamento appropriato, questi effluenti pongono gravi rischi ambientali (Rivas et al., 2011). Per questo si rendono necessari processi biologici e fisico-chimici per trattare gli effluenti del latte (Kushwaha et al., 2010).

Il siero di latte rappresenta sicuramente il sottoprodotto a maggiore impatto ambientale generato nella produzione del formaggio (Rajeshwari et al., 2000). Al fine di ridurre il BOD e ottenere prodotti ad alto valore aggiunto, sono stati proposti

diversi approcci e processi biotecnologici. Studi volti a valutare l'idoneità del siero di latte a produrre single cell protein (SCP) utilizzando il lievito *Kluyveromyces fragilis* hanno dimostrato una riduzione del COD totale del 42% e del 98% del suo valore iniziale, rispettivamente senza e con la rimozione della biomassa di lievito. Inoltre, diversi studi hanno indicato la possibilità di produrre, a partire dal siero di latte, diversi acidi organici e altri prodotti utili, come peptidi bioattivi, siero di latte acido, bevande a base di siero di latte, zuppe di siero di latte, SCP, enzimi, carotenoidi, bio-conservanti come LBA, gomme biologiche, esopolisaccaridi (inclusi galatto-oligosaccaridi) e bioplastiche inclusi polidrossialcanoati.

In questo contesto, lo scopo di questo elaborato è quello di analizzare in modo critico le fasi della filiera lattiero casearia per poter identificare quali sono i principali scarti e sottoprodotti, passando in rassegna le caratteristiche nutrizionali e compositive di questi, per rilevare l'incidenza che hanno a livello di impatto ambientale.

Saranno altresì analizzate le principali tecnologie innovative o tradizionali impiegate per la valorizzazione del siero di latte e che permettono dunque l'ottenimento di molecole ad alto valore aggiunto.

Inoltre, il presente lavoro metterà in luce le capacità funzionali dei costituenti chimici del siero di latte promuovendo un'industria che si focalizza sulla valorizzazione dei sottoprodotti, consentendo così di diminuire e/o eliminare l'impatto ambientale dei caseifici e generare nuove risorse dalla trasformazione delle sostanze che venivano precedentemente considerate rifiuti.

Questi obiettivi sono coerenti con l'Agenda 2030 per lo Sviluppo Sostenibile sottoscritta nel settembre 2015 dai governi dei 193 paesi membri dell'ONU.

Sarà inoltre approfondita una pratica per l'ottenimento di molecole ad elevato valore aggiunto a partire da siero. In particolare, verrà criticamente analizzata una modalità di valorizzazione del siero di latte grazie alla fermentazione da parte di lieviti, con produzione di SCP (Single Cell Protein), in quanto risulta essere un processo economico che permette di risolvere, almeno in parte, la principale problematica della filiera lattiero-casearia legata all'impatto ambientale in quanto consente contemporaneamente la riduzione del COD.

3. FILIERA LATTIERO CASEARIA – Visione nazionale ed europea

L'industria lattiero casearia italiana può essere considerata un fiore all'occhiello del paese per la qualità e la quantità dei prodotti immessi sul mercato sempre più conosciuti ed imitati in tutto il mondo.

Si articola in una vasta gamma di prodotti: latte pastorizzato e sterile, burro, crema, lattici fermentati, condensati, concentrati e formaggi (freschi, stagionati, cotti, ecc..)

Generalmente viene impiegato latte bovino, ovino, caprino e bufalino prodotti in tutto il paese, con elevate concentrazioni in alcune regioni, dove rappresenta un importante fattore di sviluppo e di occupazione nel settore primario e nell'industria di trasformazione.

Circa il 60% del latte prodotto in Italia viene destinato alla trasformazione dei prodotti caseari. Questo settore produttivo si differenzia in modo chiaro tra medie e grandi industrie da un lato e caseifici di dimensioni artigianali e piccole unità annesse alle aziende agrarie dall'altro. Le imprese di piccole dimensioni e le aziende cooperative si dedicano alla produzione di formaggi duri o semiduri tipici e di qualità (come ad esempio il Parmigiano Reggiano o il Grana Padano), mentre le imprese di medie e grandi dimensioni operano nel comparto del latte alimentare e in quello della produzione di formaggi freschi di largo consumo.

L'Italia occupa una posizione importante nel panorama mondiale della produzione di latte vaccino contribuendo, con una produzione pari a 11.305.601 t (92.4% della produzione totale di latte italiano), circa il 10% della produzione della Unione Europea che copre, a sua volta, oltre il 22% della produzione mondiale. A questa ricchezza produttiva si deve aggiungere il latte di altre specie lattifere, quali ovini (660.453 t pari al 5.4% del totale), caprini (120.790 t pari all'1% del totale) e bufalini (150.500 t pari all'1.2% del totale) che hanno un notevole peso nel contesto produttivo italiano.

Il latte che viene utilizzato nella produzione di formaggio si divide a sua volta in prodotti con denominazione d'origine 36,4% e il restante 33,6% viene indirizzato alla produzione di formaggi generici.

Per quanto riguarda la realizzazione di formaggi, la produzione europea rappresenta circa il 45% della produzione mondiale.

L'Italia si colloca al quinto posto tra i paesi produttori con il 6% della produzione totale dopo USA, ex URSS, Francia e Germania (Ercoli, et al. 2017).

La produzione casearia nazionale, a differenza di quella dei Paesi del nord Europa, è caratterizzata da un elevato numero di impianti di trasformazione. Dai dati ISTAT (2000) risulta infatti che l'Italia nel 1999 contava circa 2000 caseifici, che trasformavano oltre 9 milioni di tonnellate di latte.

Nella Tabella 1 sono elencate le regioni italiane affiancate dal numero di unità produttive locali nel settore lattiero caseario, in cui possiamo notare che quelle con il maggior numero di impianti nel 1997 erano: Veneto, Campania, Lombardia ed Emilia-Romagna.

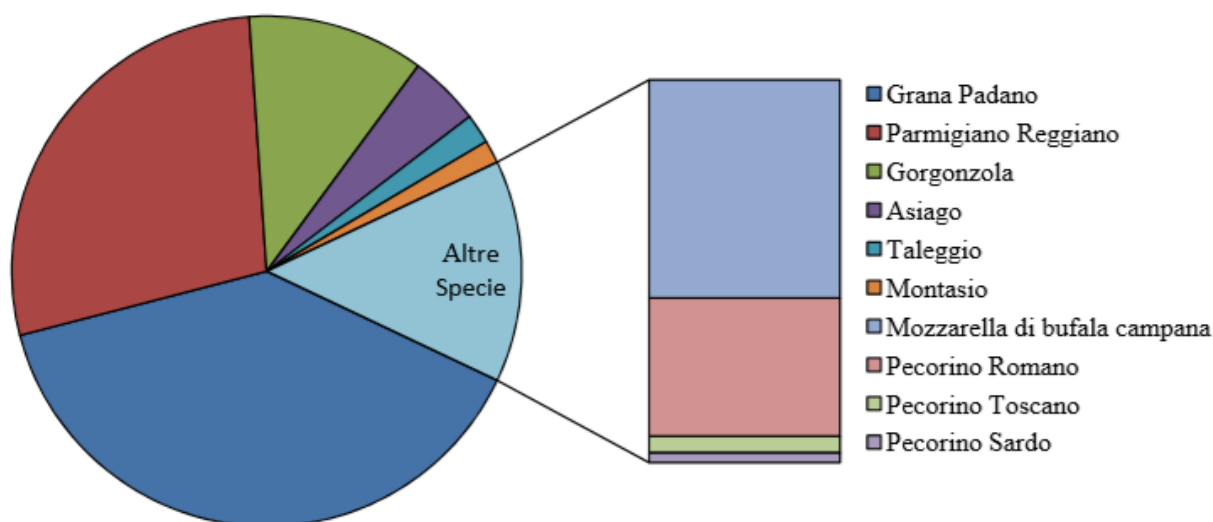
Tabella 1. Numero di unità produttive locali nel settore lattiero-caseario (1997) per tipo e regione in Italia (elaborazioni A.I.A. su dati ISTAT)

REGIONI	CASEIFICI E CENTRALI DEL LATTE	STABILIMENTI DI AZIENDE AGRICOLE	STABILIMENTI DI ENTI COOPERATIVI*	CENTRI DI RACCOLTA	TOTALE
PIEMONTE	74	3	19	3	99
VALLE D'AOSTA	4	1	13	-	18
LOMBARDIA	148	12	142	5	307
TRENTINO - ALTO ADIGE	10	-	30	1	41
BOLZANO	5	-	8	1	14
TRENTO	5	-	22	-	27
VENETO	91	5	85	7	188
FRIULI - VENEZIA GIULIA	26	1	73	14	114
LIGURIA	7	1	3	1	12
EMILIA - ROMAGNA	108	11	403	2	524
TOSCANA	35	3	12	2	52
UMBRIA	13	-	3	-	16
MARCHE	8	-	1	-	9
LAZIO	64	3	1	1	69
ABRUZZO	37	-	1	-	38
MOLISE	24	-	1	-	25
CAMPANIA	214	5	1	4	224
PUGLIA	137	3	14	3	157
BASILICATA	32	4	9	1	46
CALABRIA	26	4	1	1	32
SICILIA	14	3	1	-	18
SARDEGNA	30	2	18	2	52
ITALIA	1102	61	831	47	2041

*comprese le latterie turnarie e di prestanza

In Italia l'INSOR ha censito nel 1991 circa 400 varietà di formaggi. Come riportato in Figura 2, nel 2014 tra le produzioni più importanti distribuite nelle varie regioni italiane si distinguevano 49 formaggi DOP.

Figura 2. *Formaggi DOP prodotti con latte di vacca e altre specie nel 2014 in Italia (CLAL, 2014.)*



3.1 Sottoprodotti

Il problema dei “rifiuti” inteso come sostenibilità industriale non è un tema di recente attenzione. Già nella Direttiva 2008/98/CE si evince l’intenzione di voler potenziare il mercato dei sottoprodotti per ridurre la produzione dei rifiuti e migliorare l’efficienza dell’utilizzazione delle materie prime e ridurre l’impatto ambientale.

In tutte le fasi della filiera lattiero-casearia (formulazione, lavorazione, confezionamento, trasporto, conservazione, distribuzione, ecc.) si generano scarti qualitativi e quantitativi, generalmente intorno al 2% della produzione complessiva dell’industria, che possono causare seri problemi di inquinamento.

Vengono identificate due categorie di inquinanti principali:

- I prodotti lattiero-caseari stessi, materie prime o prodotti finiti (fuoriuscita durante il riempimento, rifiuti associati a requisiti di igiene, perdite di processo, ecc.);
- I reagenti utilizzati per il lavaggio degli impianti che sono generalmente prodotti acidi, basici e sterilizzanti (si tratta di reagenti minerali che non comportano inquinamento specifico perché presenti in basse concentrazioni, tuttavia, possono causare picchi di pH alcalino o acido).

I principali sottoprodotti associati alla produzione di yogurt, formaggio fresco, formaggio stagionato, burro ecc. sono il siero di latte e le acque reflue di lavorazione con caratteristiche diverse in base al prodotto ottenuto ed alla tipologia di latte utilizzato.

I reflui derivanti dall'attività lattiero casearia hanno un alto carico organico causato dalla presenza di carboidrati e proteine del latte, questo viene monitorato grazie alla Domanda Biologica di Ossigeno (BOD) e Domanda Chimica di Ossigeno (COD). Questi due parametri ci permettono di determinare la biodegradabilità degli effluenti tramite un indice, espresso come il rapporto tra BOD₅ e COD, solitamente compreso tra 0.4 e 0.8.

A causa del grado di contaminazione di tali effluenti non è possibile smaltirli senza arrecare danno all'ambiente ricevente (Prazeres, et al., 2012).

Nella Tabella 2 è riportata una stima del bilancio di massa dei principali prodotti di ingresso e dei corrispondenti prodotti, sottoprodotti, rifiuti ed effluenti in uscita nel processo di trasformazione del latte. Secondo questo bilancio la quantità di siero prodotto rappresenta l'88,7% del peso del latte lavorato, quindi per ogni chilogrammo di formaggio residuano 7,8 Kg di siero.

Tabella 2. Bilancio di massa del processo di caseificazione (ANPA,1999.)

TIPOLOGIA DEL MATERIALE	QUANTITA'(Kg)
<i>In entrata</i>	
Latte per formaggio	100,0
Latte per altri prodotti	3,6
Acqua	135,8
Additivi	2,1
<i>In uscita</i>	
Formaggio	11,4

Burro, yogurt, altro	4,1
Siero	88,7
Effluenti	137,1
Resi e scarti	0,2

4. SIERO DI LATTE

4.1 Storia, produzione ed utilizzazione del siero

Il prodotto secondario principale della filiera lattiero-casearia è il siero. Si tratta della frazione liquida risultante dalla coagulazione del latte e dalla successiva separazione della cagliata, è un liquido di colore giallo/verdognolo, si possono ottenere fino a 9 L di prodotto per ogni Kg di formaggio (Smithers, 2008). La parola siero deriva dalla lingua latina “*seracei*”, “*seras*”, significa “sottoprodotto” ed era considerato un ottimo alimento sia dai contadini che dalla classe feudale durante tutto il medioevo quando, dopo la produzione di formaggio, si facevano coagulare le proteine contenute nel siero, ottenendo la ricotta (Montuoro, 2006).

Attorno alla metà del 1600 divenne una bevanda alla moda nelle città inglesi, nel XIX secolo il siero veniva utilizzato come ingrediente in molte bevande, mentre nel 1900 ci fu un notevole incremento di studi per l'estrazione delle sue componenti. Il crescente interesse nelle applicazioni industriali del siero ha portato allo sviluppo di processi per il recupero di questo prodotto. In Italia, negli anni '90, vennero istituiti i primi centri per la lavorazione e la concentrazione del siero di latte.

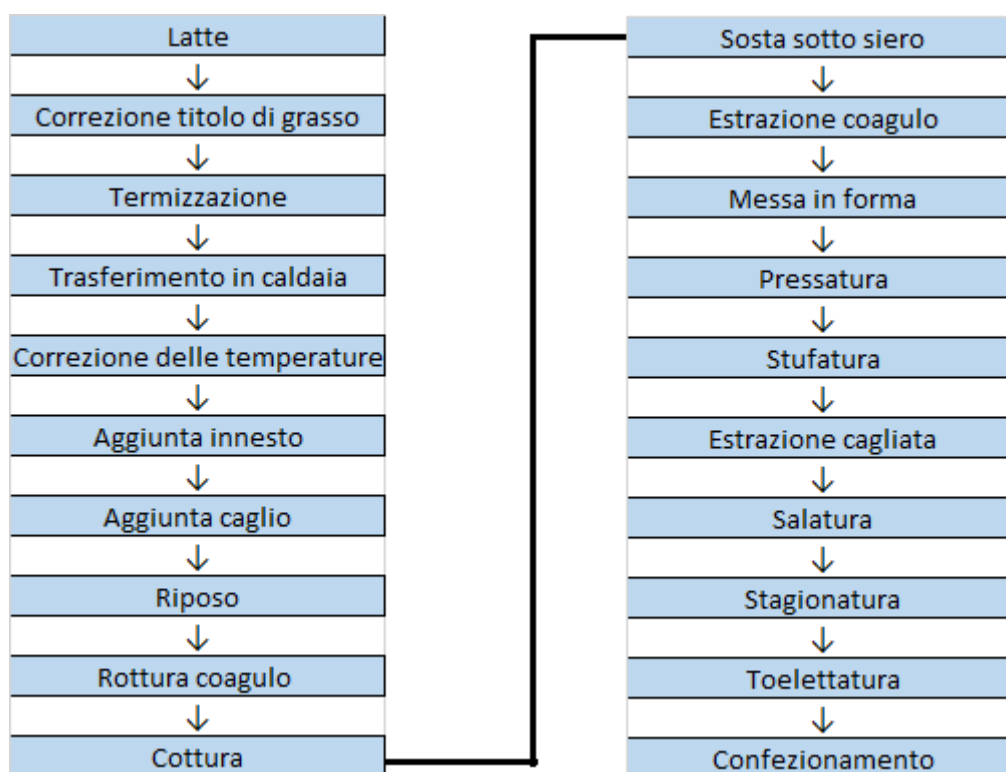
Grazie allo sviluppo tecnologico, oggi, le componenti da esso estratte vengono utilizzate in una vasta area di industrie: cosmetica, farmaceutica, dolciaria etc. anche se la maggior parte viene ancora utilizzato per la produzione di ricotta e nell'industria della mangimistica.

I principali stadi, durante la produzione dei formaggi (Figura 3.), in cui avviene la separazione del siero sono:

- *La fase di sineresi*, ovvero lo spurgo della cagliata (liberazione del siero) per effetto della contrazione naturale dei legami;
- *La rottura della cagliata* che avviene all'interno della caldaia atta a favorire la separazione della maggior parte del siero della massa caseosa gelificata;

- *Le fasi di messa in forma, pressatura e stufatura*: nei formaggi molli, la cagliata viene lasciata negli stampi affinché rilasci il siero per effetto della gravità, nei formaggi semiduri, invece, una volta che la cagliata viene messa negli appositi stampi l'espulsione del siero avviene tramite la pressatura. Nei formaggi a pasta dura lo spurgo viene effettuato tramite un sistema di pressione con appositi pesi;
- *La fase di salatura*, che ha lo scopo di regolare il contenuto di acqua favorendo lo spurgo.

Figura 3. Schema generale della produzione dei formaggi



Nelle tabelle sottostanti (Tabella 3 e 4) possiamo notare il quantitativo di siero prodotto nel 2009 in Italia, in base alla tipologia di formaggi e all'area geografica.

Tabella 3. Siero ricavato (Kg) dai vari tipi di formaggi in Italia (Elaborazione CLAL, 2009).

PRODOTTO	Resa in formaggio da 100 Kg di latte intero	Kg di siero ricavati da 100 Kg di latte intero
----------	---	--

Formaggi freschi	14,67	85
Formaggi molli	13,66	85
Formaggi semiduri	10,37	85
Formaggi duri	7,63	85

Tabella 4. Quantità di siero (tonnellate) ricavabile da tutti i formaggi (Elaborazione CLAL, su dati ISTAT relativi alla produzione di formaggio 2009).

AREA GEOGRAFICA	Formaggio prodotto	Milk Equivalent	Siero ricavabile
Nord	845,226	8.203,182	6.972,705
Centro	91,136	760,147	646,125
Sud	241,161	2.020,657	1.717,559
Totale Italia	1.177,523	10.983,987	9.336,389

Nella Tabella 5 sono riportate le principali utilizzazioni del siero e sono messe a confronto le quantità di questo, del 2013 e del 2017. Tra i due anni presi in considerazione possiamo notare che non ci sono particolari variazioni, in Italia sono stati utilizzati circa 30.000.000 quintali/anno tra la produzione di ricotta e l'utilizzazione nella mangimistica, che corrisponde a circa il 66% di siero prodotto. A causa delle grandi quantità prodotte, spesso una percentuale di siero non viene utilizzata, ma viene eliminata grazie a dei metodi di smaltimento che hanno elevati costi di processo.

Tabella 5. Utilizzo del siero di latte (quintali) in Italia (ISTAT 2013/2017)

	2013	2017
Siero di latte utilizzato per la produzione di ricotta	7.958,016	7.946,706
Siero di latte utilizzato in forma liquida per l'alimentazione del bestiame	21.579,686	22.494,001
Siero di latte utilizzato sotto forma concentrata	11.164.349	12.616,211
Siero di latte in polvere e in pezzi	7.213,537	7.658,811

Secondo il Codice CER 020203, il siero fa parte degli “scarti inutilizzabili per il consumo e la trasformazione” (Dlgs 152/06), ma può essere considerato sottoprodotto o rifiuto in base al suo utilizzo. Viene considerato rifiuto se ha una

carica batterica totale piuttosto elevata, se questa invece è bassa può essere considerato un sottoprodotto.

Prima degli anni '70 era considerato un rifiuto e il suo smaltimento causava un forte inquinamento all'ambiente, ma per evitare che il siero con CBT (carica batterica totale) bassa fosse smaltito inutilmente, le aziende iniziarono a raffinarlo, purificarlo e quindi lo resero idoneo per l'alimentazione umana.

Il siero ha un'elevata richiesta biochimica di ossigeno (BOD) da 40.000 a 60.000 ppm e una richiesta chimica di ossigeno (COD) da 50.000 a 80.000 ppm a causa dell'elevata percentuale di lattosio (Ryan et al, 2016). Si può notare quindi, che l'inquinamento dato dal siero supera i limiti indicati nella legge Merli 319/72 (abrogata poi successivamente dal Dlgs 152/06) che sono rispettivamente 40-80 mg/l per il BOD e 160 mg/l per il COD: quindi il siero per essere smaltito nel sistema fognario deve essere prima trattato.

4.2 Composizione del siero di latte

Il siero di latte corrisponde circa all'85-95% del volume del latte ed è una miscela acquosa formata principalmente da acqua (93%). Il restante 7% è rappresentato da componenti in soluzione o soluzione colloidale, emulsione e sospensione: 77-80% di lattosio, 5-12% di proteine, 8% di sali minerali, 0,5% di grasso e 3% di acido lattico (Depuydt, 2008).

La sua composizione varia in funzione di diversi fattori, quali la specie allevata, l'alimentazione di questa, la razza, la stagione di produzione del latte, ma soprattutto il tipo di formaggio e la tecnica di produzione utilizzata (Tabella 6). Alcuni esempi per quanto riguarda la composizione variabile: il tenore di calcio e fosforo nel siero sono influenzati dal tipo di coagulazione del latte, il processo di caseificazione può modificare il tenore di grasso e di acido lattico, il siero sarà più ricco di elementi se proviene da lavorazioni da latte intero, specialmente se a cottura molto spinta.

La contaminazione inorganica del siero è attribuibile alla presenza di sali minerali (0,46 -10%), principalmente NaCl, KCl e sali di sodio che vengono addizionati durante il processo di produzione.

Tabella 6. *Composizione chimica del siero (ENEA, 2006).*

Composizione chimica del siero	
<i>Parametri</i>	<i>Valori</i>
pH	5,5-6
COD (mg/L)	70.000
Densità (g/cm ³)	1,025
Carica microbica (UFC/g)	120.000
Ceneri (g/L)	5,5
Grassi (g/L)	0,5
Lattosio (g/L)	47,0
Acido L-lattico (g/L)	1,3
Proteine totali (g/L)	8,6
Sostanza secca (g/L)	64,0

A seconda della tecnologia adottata, il siero prodotto può risultare dolce (cioè a bassa acidità) con pH > 5,6, oppure acido con pH < 5,1 (Tabella 7). In Italia maggior parte di siero prodotto è di tipo dolce ma va spontaneamente incontro ad una rapida acidificazione per azione dei batteri lattici, raggiungendo così nel giro di poche ore valori di pH inferiori a 4.

Tabella 7. *Differenza dei costituenti chimici del siero dolce ed acido (Depuydt, 2008).*

	<i>Siero dolce</i>		<i>Siero acido</i>	
	g/L	% su secco	g/L	% su secco
<i>Sostanza secca</i>	62	100	57	100
<i>Proteine</i>	7,5	12,1	3	5,3
<i>Lattosio</i>	48	77,4	46	80,7
<i>Ceneri</i>	6	9,7	8	14
<i>Grasso</i>	0,5	0,8	-	-
<i>pH</i>	6,1		4,6	

4.2.1 Il lattosio del siero

Il lattosio è uno dei componenti più importanti del siero, è un disaccaride formato da una molecola di galattosio e una di glucosio, è presente in soluzione in due forme: la forma α , solubile ad elevate temperature, e la forma β , solubile in normali condizioni ambientali. Il lattosio costituisce un'importante risorsa di energia nella

dieta quotidiana e dal punto di vista funzionale favorisce l'assorbimento del calcio a livello intestinale. La sua dolcezza in soluzione è pari al 20% della dolcezza del saccarosio e può essere separato dal siero tramite cristallizzazione. Questo trova attualmente diversi utilizzi, ad esempio come ingrediente nelle preparazioni dolciarie per promuovere la reazione di Maillard, come substrato o ingrediente nell'industria farmaceutica e per l'umanizzazione dei latti per l'infanzia.

4.2.2 I minerali e le vitamine del siero

I minerali presenti nel siero giocano un importante ruolo nella regolazione dei flussi d'acqua per osmosi a livello cellulare. Il siero presenta un basso tenore di sodio/potassio, fatto importante per prevenire l'elevata pressione sanguigna. Sono presenti anche:

- Calcio e fosfati che supportano la crescita e il mantenimento di ossa e denti.
- Lo zinco svolge molte funzioni, come quella di stimolare l'attività dell'insulina per l'assorbimento del glucosio del sangue;
- Il ferro che costituisce una parte fondamentale di alcune metallo proteine (emoglobina, lattoferrina, lattoperossidasi).
- Lo iodio che costituisce una componente importante dell'ormone tiroideo che gioca un ruolo fondamentale nella regolazione della crescita e nello sviluppo del neonato.

Le vitamine presenti nel siero sono idrosolubili. Esse supportano funzioni fisiologiche dell'organismo, quali il metabolismo di carboidrati, grassi e proteine (vitamina B5), la crescita e la riparazione dei tessuti (vitamina B2) (De Wit et al., 2001). La vitamina B2 è utilizzata anche in numerose reazioni metaboliche che coinvolgono la biosintesi di altre vitamine. Nel siero la concentrazione della riboflavina è di circa 1,9 g/L, e raggiunge i 9 g/L nel concentrato di nanofiltrazione (NF). L'acido pantotenico (vitamina B5) ha un ruolo fondamentale nel metabolismo cellulare essendo un costituente essenziale del coenzima A, è essenziale nella sintesi del colesterolo, degli steroidi e degli acidi grassi e favorisce l'utilizzazione di altre vitamine, principalmente la riboflavina. Nel siero si trova ad una concentrazione media di circa 4 g/L.

4.2.3 Le proteine del siero

Le proteine del siero di latte hanno un alto valore biologico, funzionale e nutrizionale. Le principali sono α -lattoalbumina, sieroalbumina, β -lattoglobulina, lattoferrina, immunoglobuline e glicomacropetidi (Marella, 2009; Magarò, 2012). Queste proteine sono tutte presenti nel siero essiccato senza frazionamenti preliminari, e hanno suscitato un notevole interesse per quanto riguarda la formulazione di prodotti per sportivi.

La β -lattoglobulina (50-55%), è una buona fonte di aminoacidi ramificati e ha la capacità di legare le vitamine liposolubili (A e E), gli acidi grassi e i minerali come lo zinco e il calcio, rendendoli più disponibili per l'organismo (Marella, 2009; Magarò, 2012), in soluzione ad un pH di 5.2 esiste prevalentemente in forma dimerica, le cui singole unità sono unite da legami non covalenti. Le variazioni di pH possono portare alla dissociazione della proteina nei suoi monomeri, mentre a pH > 8 si può osservare l'ossidazione dei gruppi SH.

La α -lattoalbumina (20-25%) è molto importante per la biosintesi del lattosio nelle ghiandole mammarie, contiene il 6% di triptofano, il 5% di cisteina e lo 0,9% di metionina (Heine et al., 1990). È fonte di aminoacidi ramificati e ha proprietà antitumorali e antimicrobiche, è usata nelle formulazioni di alimenti neonatali perché è la proteina più presente nel latte umano ed aumenta la produzione di serotonina nel cervello migliorando l'umore (Marella, 2009; Magarò, 2012). A pH<4 la α -lattoalbumina va incontro a denaturazione, in questa conformazione può essere attaccata e digerita dalla pepsina a livello dello stomaco.

La sieroalbumina (5-10%) è una proteina globulare di grandi dimensioni formata da 582 amminoacidi capace, in vivo, di catturare gli acidi grassi per produrre glutatione (alto contenuto di cisteina), per questo è una fonte di aminoacidi ramificati. È utilizzata anche contro le infezioni per le sue proprietà antiossidanti e nelle formulazioni nutrizionali (Marella, 2009; Magarò, 2012). Viene trasportata nel sangue legata ad acidi grassi liberi insolubili e arriva nel latte passando attraverso le giunzioni dei vasi sanguigni presenti a livello delle ghiandole mammarie.

Le immunoglobuline (10-15%) sono formate da IgM e IgA; sono le proteine più presenti nel colostro: sono glicoproteine formate da due catene leggere e da due pesanti (Marella, 2009; Magarò, 2012).

La lattoferrina LF (0,5%) si lega alle glicoproteine (famiglia delle transferrine, con la capacità di legare il ferro che se libero potrebbe portare alla formazione di radicali), è un potente antimicrobico, antibatterico e antinfiammatorio, è utilizzata anche nelle formulazioni nutrizionali. (Marella, 2009; Magarò, 2012). L'attività antimicrobica della lattoferrina è maggiore nei confronti di quei microorganismi che richiedono ferro per replicarsi (Marshall, 2004).

Il glicomacropetide (GMP) è una piccola proteina con una massa molto ridotta; è formato da k-caseina che proviene dalle micelle caseiniche e si rimuove tramite membrane di filtrazione. Il prodotto dopo la filtrazione è di colore chiaro, omogeneo e senza odori (AbdEl-Salam, 1996; Marella, 2009; Magarò, 2012).

Il siero contiene anche diverse tipologie di enzimi ad attività idrolitica, quali proteasi e lipasi, in grado di catalizzare l'idrolisi di legami chimici di proteine e lipidi, ma anche transferasi e liasi in grado di catalizzare la formazione di nuovi doppi legami.

La lattoperossidasi LP (0,2%) è prodotta dalle cellule epiteliali, è un enzima ed una glicoproteina con azione antimicrobica. Viene utilizzata come stabilizzante nello yogurt e dall'industria farmaceutica (Marella, 2009; Magarò, 2012). È l'enzima più abbondante e catalizza la riduzione dell' H_2O_2 , si rinviene nel siero in seguito al processo di caseificazione, è molto stabile perché non viene inattivata dai processi di pastorizzazione, caratteristico per la sua funzione di "conservante".

Altri aminoacidi ramificati che troviamo in abbondanza sono la valina, l'isoleucina, e la leucina. In particolare, quest'ultima è un importante fattore per la crescita e la riparazione dei tessuti.

4.2.3.1 Proprietà nutrizionali, funzionali e biomediche delle sieroproteine

Le sieroproteine (SP) sono largamente utilizzate nell'industria alimentare, in forma di polvere, in base alle loro proprietà nutrizionali e funzionali. Le proprietà nutrizionali sono correlate al valore biologico (VB) che indica la percentuale di alimento che viene assimilata dal corpo umano, durante la digestione, in rapporto a quella ingerita con la dieta (P. Coyot 1996). Le SP hanno un valore biologico del 95% circa, e dipende dalla composizione media in aminoacidi.

Gli aminoacidi essenziali (AE) sono quelli che l'organismo non è in grado di sintetizzare ex novo, quindi devono essere assunti con la dieta. Nella tabella 7 possiamo notare che alcune percentuali di AE sono più elevate nel siero rispetto al latte, questo è dovuto al fatto che il dato percentuale è stato calcolato in base alle proteine totali, che nel latte sono quantitativamente superiori a quelle del siero.

Tabella 7. *Aminoacidi essenziali presenti nel latte e nel siero di latte (Pizzichini, 2006)*

Aminoacidi	Latte (g/L)	Siero di latte (g/L)
<i>Treonina</i>	50,0	50
<i>Valina</i>	62	52
<i>Metionina</i>	22	17
<i>Isoleucina</i>	58	54
<i>Leucina</i>	89	114
<i>Fenilalanina</i>	44	34
<i>Lisina</i>	70	94
<i>Istidina</i>	24	18
<i>Arginina</i>	23	29
<i>Triptofano</i>	12	20

Le SP inoltre sono particolarmente digeribili perché non vengono coagulate nello stomaco e contengono aminoacidi ramificati molto utili per la formazione della massa muscolare. Per proprietà funzionali, invece, si intendono le caratteristiche chimico-fisiche che ne consentono un grande utilizzo nell'industria alimentare. Una delle caratteristiche più interessanti ai fini applicativi riguarda la loro elevata solubilità in acqua da pH 2 a circa 10.

Le proprietà funzionali delle SP sono utilizzate non soltanto dall'industria alimentare, che rimane quella più importante, ma anche per la produzione di linee dietetiche di alimenti, nell'industria cosmetica ed in quella farmaceutica, come riportato nella tabella 8.

Tabella 8. Applicazioni cosmetiche e farmaceutiche dei siero-derivati (ENEA,2006)

Industria	Prodotti commerciali	Matrice base	Proprietà
Dietetica	Integratori proteici	Diafiltrato siero Idrolizzati WPC WPC	Diminuzione contenuto lattosio Aumento contenuto proteico
	Prodotti dietetici		
	Diete speciali		
Cosmetica	Creme, lozioni, emulsioni	Siero concentrato WPC	Nutrienti capelli e derma
	Creme antietà	Siero, WPC	Dermoprotezione Antietà
Farmaceutica	Latti in polvere per infanti Latti umanizzati Integratori sportivi Antiossidanti Antitumorali	Diafiltrato siero Idrolizzati WPC WPI	Integratori muscolari Antiossidanti Peptidi con proprietà farmacologiche

Per quanto riguarda le proprietà biomediche le SP agiscono come antiossidanti, anti-ipertensivi, antitumorali, hanno proprietà ipolipidemiche, antivirali e antibatteriche (Pizzichini et al., 2006). È stato dimostrato che le proteine del siero denaturato, addizionate in piccole dosi di Vitamina B1 e B2, favoriscono l'aumento di peso corporeo e di massa magra in pazienti sieropositivi, riducono i tumori, l'incidenza della polmonite e ritardano l'invecchiamento (P. Coyot 1996). Le SP hanno un indice glicemico basso e ottimizzano la curva insulinica, riescono ad abbassare il colesterolo più della caseina e della soia e, allo stesso tempo, se usate nelle quantità appropriate, inducono sazietà. Una porzione di 25-30 g di proteine stimola il rilascio della colecistochinina (CCK), un ormone in grado di placare il senso di appetito (M. Pizzichini et al., 2006)

4.2.3.2 Effetto della temperatura sulle proteine del siero

Le elevate temperature, caratteristiche dei trattamenti termici per il risanamento e per la produzione di prodotti in polvere (Macèt et al., 2002), inducono cambiamenti nel latte, le modificazioni più evidenti si verificano a carico delle sieroproteine.

La denaturazione termica è costituita da una modificazione della struttura secondaria, terziaria e quaternaria, non accompagnata da una rottura dei legami peptidici coinvolti nella struttura primaria. L'impiego del calore può condurre alla precipitazione delle proteine, ma ciò si verifica solo in determinate condizioni di concentrazione e di pH. (Pizzichini et al.,2006)

Pertanto, il contenuto in sieroproteine rappresenta un indice significativo della valutazione dei trattamenti termici sul latte insieme ad altri parametri chimici, fisici e biologici (fosfatasi alcalina e lattoperossidasi, furosina e lattulosio) (Montuoro, 2006)

4.2.4 I peptidi bioattivi nel siero di latte

I peptidi bioattivi (PB) sono stati identificati all'interno della sequenza aminoacidica delle proteine del latte ed a seguito di processi digestivi e di reazioni idrolitiche possiamo ottenere un pool di peptidi a basso peso molecolare, i quali possono essere separati e testati individualmente per le loro proprietà biologiche.

I peptidi bioattivi (Tabella 9) assieme alle SP rappresentano la frazione più importante dei componenti del siero e la loro presenza garantisce un incremento nel valore aggiunto del prodotto finale.

I PB influenzano direttamente numerosi processi biologici stimolando specifiche risposte a livello ormonale, comportamentale e gastrointestinale. Le attuali conoscenze sul ruolo fisiologico e biochimico dell'azoto nutrizionale, che si sono sviluppate nell'ultima decade, hanno mostrato che i frammenti peptidici, risultanti dall'azione delle proteasi nel tratto digestivo, non solo forniscono gli amminoacidi all'organismo, ma sono anche regolatori fisiologici sia direttamente, come neurotrasmettitori, che indirettamente, perché intervengono nella secrezione di ormoni ed enzimi dai recettori intestinali (Brody 2000; Eisenstein 2002).

Tabella 9. Esempi di peptidi bioattivi del latte (Clare et al. 1999)

Peptide sequence ¹	Name	AA ² segment	Physiological classification	Release protease
FFVAP	α_{s1} -Casokinin-5	α_{s1} -CN (f 23–27)	ACE inhibitor	Proline endopeptidase
AVPYPQR	β -Casokinin-7	β -CN (f 177–183)	ACE inhibitor	Trypsin
YGLF	α -Lactorphin	α -LA (f 50–53)	ACE inhibitor and opioid agonist	Synthetic peptide
ALPMHIR	β -Lactorphin	β -LG (f 142–148)	ACE inhibitor	Trypsin
KVLPVPQ	Antihypertensive peptide	β -CN (f 169–174)	Antihypertensive peptide	Lactobacillus CP790 protease & synthetic peptide
MAIPPKKNQDK	Casoplatelin	κ -CN (f 106–116)	Antithrombotic	Trypsin & synthetic peptide
KDQDK	Thrombin inhibitory peptide	κ -CN glyco-macropptide (f 112–116)	Antithrombotic	Trypsin
KRDS	Thrombin inhibitory peptide	Lactotransferrin (f 39–42)	Antithrombotic	Pepsin
QMEAES*IS*S*S* EEIVPNS*VEQK	Caseinophosphopeptide	α_{s1} -CN (f 59–79)	Calcium binding and transport	Trypsin
LLY	Immunopeptide	β -CN (f 191–193)	Immunostimulatory (+)	Synthetic
FKCRRWQWRMK KLGAPSITCVRR AF	Lactoferricin B	Lactoferrin (f 17–41)	Immunomodulatory (+) and antimicrobial	Pepsin
YQQPVLGPVR	β -Casokinin-10	β -CN (f 193–202)	Immunomodulatory (+/-) & ACE Inhibitor	Synthetic
RYLGYLE	α -Casein exorphin	α_{s1} -CN (f 90–96)	Opioid agonist	Pepsin
YGFQNA	Serorphin	BSA (f 399–404)	Opioid agonist	Pepsin
YLLF-NH ₂	β -Lactorphin (amide)	β -LG (f 102–105)	Opioid agonist = ACE Inhibitor	Synthetic or Trypsin
YPIQYVLSR	Caseoxin C	κ -CN (f 25–34)	Opioid antagonist	Trypsin
[YVPF PPF]	Caseoxin D	α_{s1} -CN (f 158–164)	Opioid antagonist	Pepsin-chymotrypsin
YLGSGY-OCH ₃	Lactoferroxin A	Lactoferrin (f 318–323)	Opioid antagonist	Pepsin

4.3 Contaminanti chimici e biologici del siero

Appare necessario valutare quali possono essere le possibili contaminazioni del siero di latte, in quanto questa matrice viene utilizzata per la produzione di alimenti. La sicurezza igienica del latte è intesa come salubrità del prodotto, di conseguenza la sua immissione sul mercato non risulterebbe possibile se fosse accertata la presenza di contaminanti in concentrazioni inaccettabili dal punto di vista tossicologico.

Per contaminante si intende una sostanza non aggiunta intenzionalmente ai prodotti alimentari e presente in questi ultimi sotto forma di residuo delle fasi di produzione: fabbricazione, preparazione, trattamento, trasformazione, imballaggio, condizionamento, trasporto, immagazzinamento oppure a seguito di contaminazione di origine ambientale.

Le principali fonti di contaminazione sono di origine biologica e chimica. I contaminanti di origine biologica (organismi vitali e/o loro tossine) appartengono a due grosse categorie:

1. I microrganismi (batteri, lieviti e muffe);

2. Organismi superiori

La contaminazione può essere di tipo primario se i microrganismi sono presenti nell'alimento all'origine, oppure di tipo secondario se questi penetrano nell'alimento durante le fasi di processo.

I residui chimici potenzialmente rischiosi per la salute invece, possono derivare da pratiche agronomiche (pesticidi, fertilizzanti), cessioni da parte di macchinari e contenitori, inquinamento ambientale di origine industriale ed urbano (diossine, metalli pesanti).

I pericoli di natura biologica rappresentano un importante problema poiché i dati rivelano che la *Salmonella*, l'*Escherichia coli* e la *Listeria monocytogenes* sono i più importanti agenti di contaminazione. Generalmente questi microrganismi possono portare all'insorgenza di tossinfezioni alimentari che si manifestano in modo acuto ed a breve distanza dall'ingestione dell'alimento contaminato, mentre le ripercussioni sulla salute date dai contaminanti di natura chimica, anche a bassi livelli di assunzione, hanno carattere latente e si manifestano a distanza di tempo con patologie molto gravi, sintomatologie variabili e di difficile individuazione.

4.3.1 Regolamenti e ISO per le analisi del siero

Per poter considerare il siero un sottoprodotto e quindi utilizzarlo come fonte di nutrienti, oltre a non contenere sostanze tossiche deve rispondere a requisiti di qualità determinati a livello legislativo, in cui sono normate anche le metodologie di ottenimento e di lavorazione.

La Gazzetta ufficiale dell'unione europea nel "REGOLAMENTO (CE) N. 273/2008 DELLA COMMISSIONE del 5 marzo 2008 (che stabilisce le modalità di applicazione del regolamento (CE) n. 1255/1999 del Consiglio Europeo per quanto riguarda i metodi di analisi e la valutazione qualitativa del latte e dei prodotti lattiero-caseari)" stabilisce linee guida per la valutazione delle analisi e il rispetto dei parametri dei prodotti lattiero-caseari.

L'analisi del siero di latte è menzionata nell'articolo 9, in cui è spiegata la ricerca di siero di latte presamico. Come citato nell'articolo: "1. Per la ricerca di siero di latte presamico nel latte scremato in polvere destinato all'ammasso pubblico si

applica il metodo di riferimento descritto nell'allegato XII. 2. Per la ricerca di siero di latte presamico nel latte scremato in polvere e nelle miscele destinati all'alimentazione animale si applica il metodo di riferimento descritto nell'allegato XII. Se si riscontra la presenza di siero di latte presamico si applica l'allegato XIII.”

Nell'allegato XII e XIII sono presenti i metodi analitici, compresi di descrizioni del procedimento ed è indicata la ISO di riferimento, la quale, a sua volta contiene metodi di campionamento del latte e prodotti derivati per l'analisi microbiologica, chimica, fisica e sensoriale, escluso il campionamento semi-automatico.

- UNI EN ISO 707:2008

4.3.2 Metalli con effetti tossici nel latte

Le analisi del siero ci permettono di individuare l'eventuale presenza di metalli tossici nel latte che possono causare patologie poiché hanno un effetto di tossicità cronica.

La principale problematica riguarda la presenza di piombo, che è un metallo tossico e gli inquinamenti avvengono sul foraggio predisposto alla coltivazione (De Noni, 2000).

Anche la presenza di altri metalli può portare problematiche, ad esempio, il cadmio che si trova legato alle proteine del siero perché ha molta affinità con i gruppi -SH, il mercurio che oltre ad avere una buona affinità per le proteine riesce a legarsi anche con i globuli di grasso e lo stagno inorganico.

Nel siero sono presenti anche il ferro, il rame e il manganese che sono oligoelementi indispensabili, ma possono dare problemi a livello tecnologico nei prodotti grassi se sono presenti in quantità molto elevate.

Nel REGOLAMENTO (CE) N. 1831/2003 DELLA COMMISSIONE del 22 settembre 2003 (che definisce i tenori massimi di alcuni contaminanti nei prodotti alimentari) sono indicati i valori massimi consentiti della presenza di piombo. (Tabella 10)

Tabella 10. Tenori massimi di piombo (mg/Kg di peso fresco) nel latte. (Reg. (CE) N. 1881/2006)

Piombo	Tenori massimi (mg/Kg di peso fresco)
<i>Latte crudo, latte trattato termicamente e latte destinato alla fabbricazione di prodotti a base di latte</i>	0,020

1. STRATEGIE DI GESTIONE E RECUPERO DEL SIERO

Grazie al progressivo aumento della consapevolezza dei consumatori in materia di nutrizione, qualità e rispetto dell'ambiente, l'industria casearia ha riconosciuto l'importanza delle componenti del siero (Jayaprakasha e Brueckner, 1999) che contiene circa il 50% dei solidi totali del latte, tra cui un'elevatissima percentuale di lattosio e il 20% di proteine (Smithers, 2008).

Per questo motivo sono state sviluppate svariate tecnologie di valorizzazione del siero atte a perseguire il recupero e il riutilizzo delle sue componenti, abbattendo il suo potere inquinante.

Oggi è possibile considerare differenti opzioni di gestione e/o smaltimento:

1. Trattamenti biologici
2. Tecnologie di valorizzazione degli effluenti
3. Trattamenti chimico-fisici

In primo luogo, è possibile effettuare dei trattamenti biologici che vengono largamente utilizzati per la valorizzazione del substrato. Alcuni esempi possono essere: la fermentazione controllata, la quale viene sfruttata per la produzione di acido lattico, acido acetico, butanolo, glicerolo, idrogeno, metanolo etc.

La seconda possibilità prevede l'impiego di tecnologie che mirano alla concentrazione e al recupero di alcuni componenti di pregio, quali lattosio e proteine. Oggi questi processi di valorizzazione sono i più utilizzati, ma devono essere seguiti da un trattamento per lo smaltimento degli effluenti restanti.

La terza scelta ricorre all'utilizzo di trattamenti chimico-fisici (flocculazione, precipitazione etc.) che possono essere combinati ai precedenti.

Il trattamento ottimale da adottare dipende principalmente dalle caratteristiche della matrice, dalla quantità dei componenti, dalle tecnologie a disposizione e dai limiti imposti per legge. Inoltre, alle tecnologie di valorizzazione sono associati costi piuttosto elevati, che non sono tollerabili per le piccole e medie imprese (Prazeres, et al., 2012).

5.1 Processi tradizionali di trattamento del siero

I processi di trattamento del siero, definiti tradizionali, impiegano principalmente tecnologie di precipitazione, complessazione e filtrazione a membrana. Sono definiti tradizionali perché, grazie all'evoluzione tecnologica, alcune di queste pratiche non sono risultate funzionali e poco convenienti a livello economico.

I processi di precipitazione si basano sulla formazione di complessi proteici, in caso di una forte acidificazione, oppure di complessi composti da SP e polielettroliti (sali di ferro, tannini, chiosano), invece, quelli di complessazione permettono di recuperare SP non denaturate, ma con il rischio di contaminazione del prodotto da parte di metalli pesanti.

Le pratiche più impiegate a livello industriale sono quelle di concentrazione termica del siero seguita dall'essiccamento, spesso con spray drying (Nielsen) al fine di ottenere una polvere utilizzata nel settore zootecnico. Questa tecnica impiega tecnologie tradizionali e genera un prodotto di basso valore commerciale, poiché la polvere è ricca di lattosio e povera di SP, oltre al fatto che spesso vengono superate le temperature di denaturazione delle SP, causando degradazioni.

Tra i processi tradizionali per il siero troviamo anche delle tecniche di adsorbimento selettivo delle SP con resine a scambio ionico, che risultano complicate perché le SP devono essere rimosse dal supporto tramite una diluizione del prodotto, che porterà ad un successivo essiccamento.

Un altro metodo per separare la SP dal siero di latte consiste nella precipitazione selettiva in funzione del pH e della forza ionica, giocando sul punto isoelettrico delle diverse famiglie sieroproteiche, ma con il rischio di ottenere una soluzione impoverita di SP ed un precipitato molto diluito.

La tecnica di elettrodialisi è applicata al siero di latte allo scopo di ridurre il contenuto in ceneri del prodotto finito in polvere. È una tecnica che rimuove la maggior parte dei sali minerali, utilizzando membrane a scambio ionico che sono localizzate fra un campo elettrico (Batchelder 1986). La principale problematica è che, da sola, questa tecnica non risolve il problema dell'inquinamento ambientale.

Molti di questi processi, in realtà, non risolvono tale problematica, poiché l'evaporato del siero, ad esempio, ha un COD ancora elevato e dovrebbe essere ulteriormente depurato per rispettare le normative, andando ad aumentare notevolmente i costi di processo.

Anche l'utilizzo del processo anaerobico come tecnologia per la lavorazione del siero, non può essere definita innovativa, anche se ancora molto utilizzata. Questa tecnica consiste nella fermentazione del siero in assenza di ossigeno all'interno di particolari fermentatori (UASB - upflow anaerobic sludge blanket). Si basa principalmente sulla trasformazione di lattosio con generazione di metano, con un massimo di produzione di 23 L di metano per 1 L di siero (T.H. Erguder 2001). Questa procedura richiede costi impiantistici e di gestione piuttosto elevati ed utilizzare il siero per produrre il biogas, può non apparire la soluzione ottimale per il recupero della matrice, dato che viene prodotto da molte altre fonti.

5.2 Trattamenti biologici

Grazie ai numerosi trattamenti biologici che si possono fare utilizzando come materia prima il siero, il lattosio, le proteine e la materia organica riescono ad essere recuperati. L'efficienza dei processi di recupero viene monitorata valutando la riduzione della richiesta biochimica di ossigeno (BOD) e la riduzione della domanda chimica di ossigeno (COD). In letteratura i primi studi che possiamo trovare si basano sull'applicazione dei processi di digestione aerobica, caratterizzata da una degradazione della materia organica veloce a temperature di 22 – 24 °C, tuttavia i sistemi aerobici hanno mostrato una bassa riduzione degli inquinanti, senza alcuna valorizzazione dei prodotti ottenuti dal trattamento.

Al contrario i trattamenti anaerobici riescono a ridurre il contenuto di inquinanti nelle acque reflue, risultando molto più efficaci per la valorizzazione.

Digestione anaerobica

La degradazione biologica della sostanza organica in condizione di anaerobiosi, cioè in assenza di ossigeno, determina la formazione di diversi prodotti, i più abbondanti sono due gas: il metano ed il biossido di carbonio. Questo processo coinvolge diversi gruppi microbici che interagiscono tra di loro: i batteri idrolitici, i batteri acidificanti (acetogeni ed omoacetogeni) ed i batteri metanigeni. Tali batteri occupano quindi la posizione finale della catena trofica anaerobica.

Essa porta alla biodegradazione delle proteine con formazione di polipeptidi, aminoacidi e ammoniaca. Il metano prodotto essendo poco solubile in acqua, passa in fase gassosa, mentre la CO₂ si ripartisce tra la fase gassosa e la fase liquida.

L'attività biologica anaerobica avviene in un ampio intervallo di temperatura: tra -5 e +70 °C. Esistono, tuttavia, differenti specie di microrganismi classificabili in base all'intervallo ottimale di crescita: psicrofili (temperature ottimali di crescita inferiori a 20 °C), mesofili (temperature ottimali di crescita comprese tra i 20 e 40 °C) e termofili (temperature ottimali di crescita superiori ai 45°C).

Idrolisi chimica o enzimatica del lattosio

L'idrolisi del lattosio può essere effettuata in modo chimico o enzimatico. La via enzimatica risulta la migliore per l'idrolisi del lattosio; essa è promossa da enzimi che scindono il lattosio in glucosio e galattosio (Prazeres et al., 2012). L'idrolisi chimica invece, presenta diversi svantaggi a causa delle elevate temperature (>150°C) e delle condizioni acide alle quali avviene (pH <1.5), può esserci una denaturazione delle proteine, può essere necessaria una fase di demineralizzazione o la formazione di colorazioni e prodotti indesiderati a causa della reazione di Maillard.

Fermentazione del siero di latte

La fermentazione alcolica del siero di latte è una pratica largamente utilizzata, anche se non molto economica, soprattutto perché permette la simultanea riduzione del carico inquinante della matrice e la conversione del lattosio in etanolo. L'etanolo prodotto a partire dal siero può essere usato nell'industria alimentare, chimica,

farmaceutica e cosmetica, o anche come fonte energetica alternativa (Prazeres et al., 2012). Questa fermentazione però, può essere sostenuta solo da microrganismi in grado di utilizzare il lattosio oppure, in assenza di questi, una possibile alternativa potrebbe essere un'idrolisi enzimatica del lattosio seguita da un secondo step di fermentazione alcolica.

Altre opzioni economicamente interessanti potrebbero essere i processi di fermentazione anaerobica con produzione di idrogeno. L'idrogeno costituisce una forma di energia pulita che non contribuisce alla formazione di gas serra e piogge acide (Prazeres et al., 2012). Generalmente le lavorazioni avvengono in condizioni mesofile (pH del mezzo circa 5), le rese riscontrate sono comprese tra 2-2.8 mol H₂/mol lattosio. Con questa tecnica la degradazione del COD è piuttosto elevata (89-90%) e la degradazione degli zuccheri corrisponde circa all'86-97%. La concentrazione di COD nell'effluente finale varia tra 0,12 e 28 kg m⁻³ in funzione del fermentatore utilizzato. Anche se si ha un'alta degradazione del substrato, l'effluente non può essere scaricato direttamente, ma necessita di un post-trattamento poiché oltre all'idrogeno si ha la produzione di acidi grassi volatili, tra cui, principalmente acido acetico e butirrico in concentrazioni piuttosto elevate (Prazeres, et al., 2012). La fermentazione anaerobica è promossa da ceppi di microrganismi anaerobi obbligati come ad esempio i Clostridi, ma grazie a fermentazioni che coinvolgono Lattobacilli e Streptococchi possiamo usufruire del siero come substrato per la produzione di acido lattico, che è largamente utilizzato nell'industria come conservante e acidificante.

5.2.1 Estrazione dei peptidi bioattivi dal siero

Nei capitoli precedenti abbiamo analizzato le proprietà biomediche dei peptidi bioattivi, per queste ragioni la loro valorizzazione risulta essere molto interessante. Essi possono essere ricavati direttamente dal latte oppure dal siero, che essendo un sottoprodotto ha dei costi molto inferiori.

Nel siero sono sempre presenti CMP (caseinomacropeptidi) che hanno un peso molecolare medio intorno a 6 kDa, e sono parzialmente presenti in tracce anche peptidi derivanti dalla idrolisi delle SP, cioè i GMP (glicomacropeptidi), inoltre,

quando si applica il processo di UF, si può procedere all'idrolisi specifica delle SP (Pizzichini et al., 2006).

Il processo ottimale per aumentare sensibilmente la concentrazione dei PB risulta quindi, quello di idrolizzare il concentrato risultante dell'ultrafiltrazione, in modo da trasformare tutte le sieroproteine in molecole idrolizzate.

5.2.2 Idrolisi enzimatica del lattosio

Questo procedimento si basa sull'utilizzazione di un enzima specifico (β -galattosidasi) per l'idrolisi enzimatica del lattosio, che permette la trasformazione del disaccaride, in glucosio e galattosio, grazie alla scissione del legame 1,4 beta-glicosidico tra gli isomeri D dei due monosaccaridi.

L'ottenimento di questi due monosaccaridi è indispensabile a livello industriale in quanto sono facilmente digeribili, ipocalorici, con notevoli proprietà dolcificanti e permettono la loro utilizzazione per la generazione di alimenti per persone che soffrono di intolleranza al lattosio (causata dall'assenza dell'enzima β -galattosidasi).

La reazione di idrolisi deve avvenire ad una temperatura compresa fra 40 e 45 °C alla quale l'enzima rimane stabile per oltre 8 ore. In queste condizioni ad un pH di 6,5, si ottiene una resa idrolitica compresa fra il 60-90% in un tempo di reazione di circa 2-3 ore. Il dosaggio ottimale dell'enzima, per avere il massimo di resa idrolitica, viene valutato intorno alle 3-5000 LAU/litro di siero (Pizzichini et al., 2006).

In cui LAU (Unità Attività Lattasica) è definita come la quantità di enzima che produce una micromole di glucosio al minuto.

Alcune prove sperimentali hanno dimostrato che determinati enzimi, in modalità batch, sul concentrato di NF hanno fornito una resa idrolitica del 90%.

5.3 Trattamenti chimici

I trattamenti chimici applicabili al siero di latte sono principalmente la precipitazione isoelettrica e termica delle proteine con la successiva separazione attraverso membrana, la salatura e la salatura in tecnica.

La precipitazione delle proteine possiamo raggiungerla andando ad aumentare le temperature oppure, a temperature e pH bassi, dobbiamo utilizzare il calcio per fargli raggiungere il punto isoelettrico.

Altri trattamenti utilizzati sono la salatura e la salatura in tecnica, in questi processi chimici sono impiegati sali, infatti, sono sfruttate le strutture delle proteine poiché contengono aminoacidi idrofilici, che attraggono l'acqua sulla loro superficie provocando un'interazione, rendendo le proteine solubili in acqua. (Marella, 2009).

Queste operazioni unitarie sono in grado di concentrare, frazionare e convertire le componenti del siero in altri costituenti ad alto valore biologico (Donnelly W. J. e Mehra R. K., 1993)

Concentrazione isoelettrica

Sfruttando i diversi punti isoelettrici (pI) delle proteine in miscela si riescono a separare per precipitazione le proteine di interesse (Marella, 2009). Il punto isoelettrico di una proteina si raggiunge al valore di pH in cui la sua carica netta è uguale a zero e nelle date condizioni, la repulsione idrostatica fra le proteine è nulla e perciò tendono ad aggregarsi e precipitare. Questa tecnica ci permette di separare un gruppo di proteine specifiche da una miscela multiproteica.

Precipitazione con temperatura

Combinando le temperature ed il pH di un trattamento possono essere separate le proteine contenute in una miscela, alla base di tale metodo si considera che la stabilità termica delle proteine del siero è legata alle condizioni di acidità del latte (Marella, 2009). Spesso per raggiungere i pH desiderati vengono utilizzati acido cloridrico o citrico.

Salatura e salatura in tecnica

Nel processo di salatura i sali più comunemente utilizzati sono il solfato di ammonio, il cloruro di sodio e il cloruro di potassio (Marella, 2009). Il loro utilizzo permette una disidratazione delle proteine poiché l'acqua presente si lega ad un sale e viene superato il limite critico della concentrazione salina della soluzione.

Nella prima fase di questo procedimento la concentrazione salina non deve superare la concentrazione critica affinché avvenga la precipitazione, successivamente grazie ad una centrifugazione potranno essere rimosse le proteine precipitate precedentemente. Nella seconda fase la concentrazione del sale deve essere superiore a quella necessaria per la precipitazione proteica in modo che vengano lasciate in soluzione esclusivamente quelle più solubili.

La principale problematica di questo processo riguarda sia la frazione liquida che la frazione proteica finale, le quali, conterranno una grande concentrazione di sale e lo stadio di purificazione sarà molto costoso (Marella, 2009)

Un altro tipo di salatura viene definita "salatura in tecnica" e si basa sull'aumento della solubilità delle proteine con conseguente diminuzione dell'interazione tra di esse. Ciò avviene grazie all'aggiunta di ioni di sali neutri (solfato di ammonio o cloruro di sodio) i quali, si legano ai gruppi ionici delle proteine causando un aumento della solubilità. Di conseguenza rimangono in soluzione le frazioni proteiche indesiderate, mentre quelle desiderate precipitano (Marella, 2009).

Frazionamento con solvente

Sfruttando la costante dielettrica della soluzione, che può essere modificata aggiungendo solventi organici idrosolubili, possiamo alterare le interazioni elettrostatiche tra le proteine favorendone la precipitazione. Più la costante dielettrica è bassa più aumentano le interazioni elettrostatiche fra le molecole proteiche; ciò provoca un calo della repulsione elettrostatica che determina la precipitazione delle proteine (Marella, 2009). Ogni frazione proteica richiede diversi tipi di solvente per precipitare in base al suo pI, la quantità ottimale di solvente organico varia dal 5-60% (Marella, 2009)

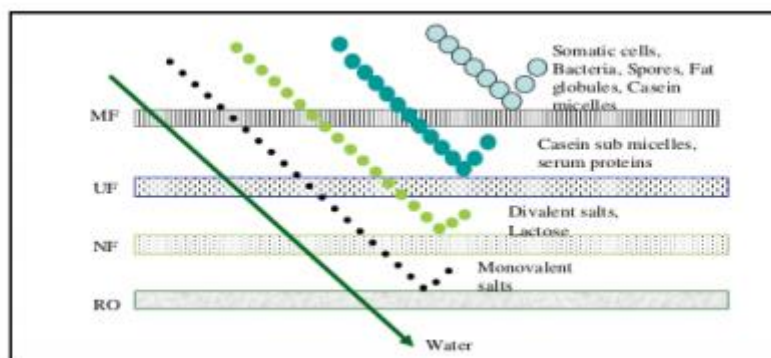
5.4 Trattamenti fisici

I principali processi fisici che utilizzano il siero come materia prima, sono basati sull'utilizzo di membrane e sono impiegati molto su larga scala, principalmente per l'ottenimento di concentrati di proteine e lattosio. I trattamenti del siero incominciano con il recupero delle SP, ma devono tenere conto delle caratteristiche molecolari di queste per massimizzare i rendimenti del processo, in quanto, le sieroproteine hanno differenti pesi molecolari, punti isoelettrici e concentrazioni variabili all'interno del siero. Se si desidera produrre SP purificate, a partire dal siero di latte, le tecniche di trattamento con tecnologie di membrana sono attualmente, oltre che le più diffuse nel mondo, anche le più interessanti dal punto di vista economico e del rispetto dell'ambiente (Pizzichini 2001).

5.4.1 Separazioni su membrana

Per l'ottenimento di prodotti ad alto valore nutrizionale e sicuri, vengono impiegate membrane filtranti semipermeabili che solitamente hanno pori che vanno da pochi millimetri fino a qualche micron e questo permette di classificare le membrane e di ottenere prodotti di diversa purezza e composizione (Pizzichini et al., 2009). Con il termine purezza si intende un prodotto che abbia quasi esclusivamente proteine con il minor contenuto di altri componenti, come grassi, colesterolo, lattosio e carboidrati (Marella, 2009). Le membrane più utilizzate sono quelle polimeriche o ceramiche che sono impiegate nelle tecniche di microfiltrazione (MF), ultrafiltrazione (UF), nanofiltrazione (NF), osmosi inversa (OR), microfiltrazione a flusso incrociato e scambio ionico (IE) (Figura 4).

Figura 4. Tipi di filtrazione in base alla membrana, alla grandezza dei pori e al tipo di materiale (Cheryan, 1998; Brans et al., 2004).

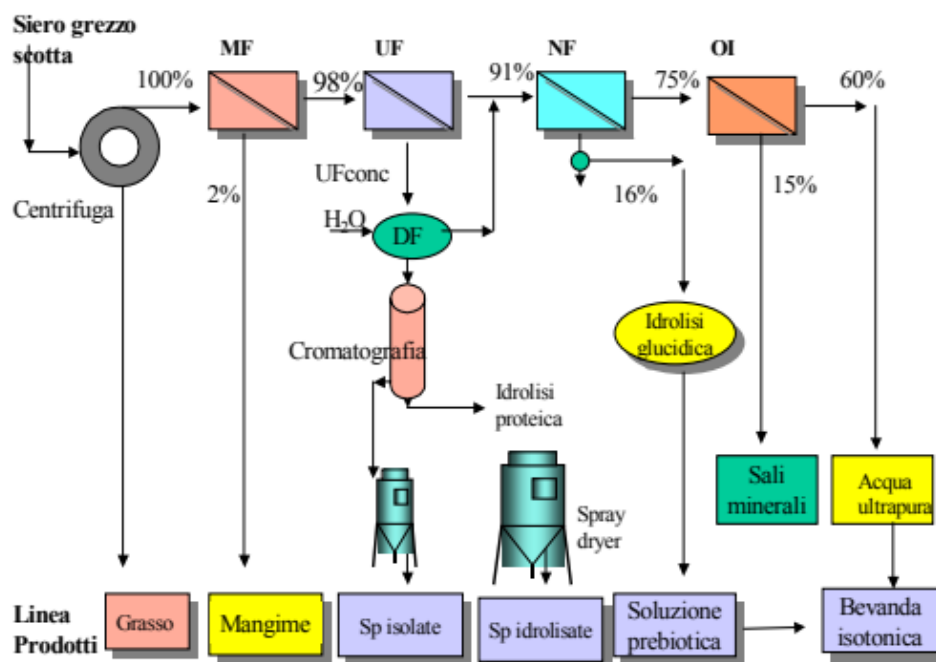


Nel dettaglio la metodica di processamento del siero tramite membrana utilizza la fase di microfiltrazione (MF) per eliminare residui grassi e carica microbica, l'ultrafiltrazione (UF) per raccogliere in modo quantitativo tutte le famiglie sieroproteiche, la nanofiltrazione (NF) per concentrare il lattosio e la fase di osmosi inversa (OI) per produrre un'acqua demineralizzata con carico inquinante inferiore ad un COD 150 ppm di O₂. (Pizzichini 2006).

Possiamo notare nella Figura 5 un processo industriale che l'ENEA (Agenzia nazionale per le nuove tecnologie, l'energia e lo sviluppo economico sostenibile) ha sviluppato al fine di recuperare tutte le componenti del siero, in particolare le SP, impiegando queste tecnologie separative.

Il processo prevede, l'utilizzo di diverse tecniche di filtrazione poste in sequenza, che impiegano membrane con dimensione dei pori filtranti sempre più stretti, che vanno dalla MF all'OI. Il processo di frazionamento del siero con tecnologie di membrana è applicabile vantaggiosamente quando la matrice non ha subito processi di fermentazione, come si può vedere dal pH del siero, i cui valori devono rimanere compresi nell'intervallo 4,5-7. Per garantire questa condizione è necessario utilizzare il siero appena prodotto dal caseificio, raffreddarlo per eventuali trasporti in cisterna, evitando il più possibile i fenomeni di fermentazione batterica che portano alla formazione di acido lattico ed anche all'idrolisi delle stesse SP (Pizzichini, 2006). In questo modo riusciamo a recuperare tutte le componenti chimiche del siero, compresa l'acqua, che potrebbe generare un importante ritorno economico industriale.

Figura 5. Schema complessivo del processo di frazionamento del siero (Pizzichini et al., 2006)



Nelle separazioni industriali sono fondamentali le differenze nelle proprietà fisiche e chimiche come le dimensioni, forma, densità, solubilità, carica elettrica e altre proprietà delle particelle presenti in una miscela multicomponente (Mohesenin, 1986; Lewis, 1990; Mulder, 2012).

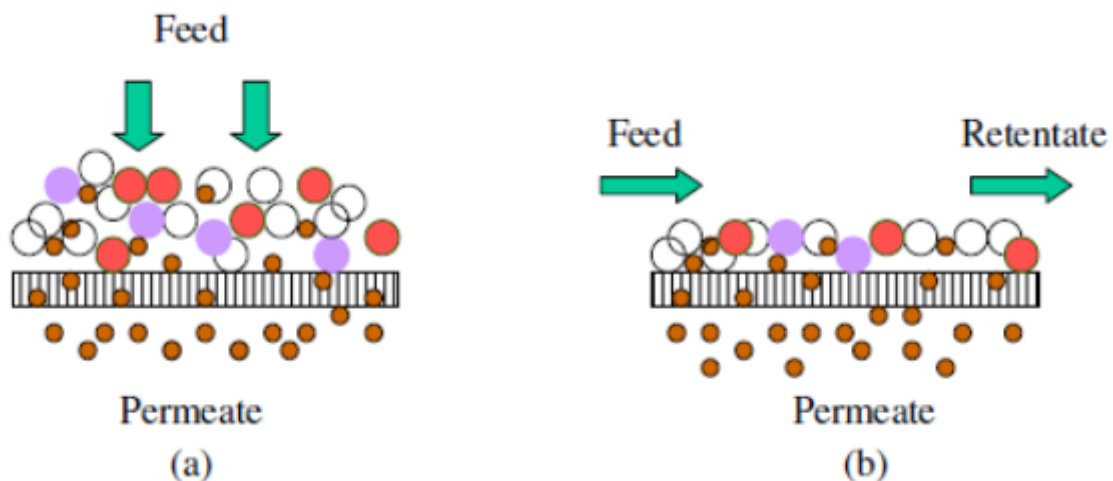
Separare tramite una membrana significa sfruttare le differenti dimensioni molecolari per allontanare composti target d'interesse o quelli da eliminare, da sospensioni composte da varietà di molecole.

Le prime membrane commercializzate furono in nitrato di cellulosa ed erano utilizzate prevalentemente in laboratorio, ma il pieno sviluppo commerciale fu raggiunto con le membrane asimmetriche. L'asimmetria fu creata tramite un processo di riscaldamento che modificava la struttura della membrana e forniva due lati differenti che si comportavano diversamente quando erano esposti alla filtrazione (Pouliot, 2008). L'asimmetria determina la distinzione fra uno strato superiore sottile e denso con spessore inferiore a 0,5 micron, che definisce la velocità di trasporto, supportato da uno strato poroso inferiore di 50-200 micron (Marella, 2009).

Per utilizzare membrane porose come mezzo filtrante risulta necessario basarsi sulla permeabilità selettiva della membrana, che fa passare le sostanze in base alla grandezza dei pori e consente di distinguere due metodi di gestione (Marella, 2009):

1. Modalità di punto morto (Figura 5 (a)), in cui la sospensione è pompata direttamente sulla superficie della membrana provocando un brusco aumento della resistenza all'interno del retentato, il flusso diminuisce drasticamente e induce un aumento della pressione (Marella, 2009);
2. Modalità di flusso incrociato (Figura 5 (b)), in cui la sospensione è pompata attraverso un flusso tangenziale che scorre lateralmente alla superficie della membrana, limitando l'accumulo di solidi sulla parte superiore. Di conseguenza avviene un'erosione della torta di retentato che permette un aumento del flusso del permeato e un calo della pressione del sistema, generando una filtrazione con maggiori velocità (Marella, 2009).

Figura 5. (a) modalità di punto morto; (b) modalità di flusso incrociato (Cheryan, 1998; Brans et al., 2004)



L'utilizzo delle membrane deve essere programmato in base alle caratteristiche compositive del materiale da filtrare, se infatti non si procede con gradualità, utilizzando in serie le tecniche sopra indicate, si rischia di intasare le membrane e viene definito come fenomeno del "fouling". In questo caso la membrana perde produttività a causa di un intasamento fisico, in quanto piccole molecole si

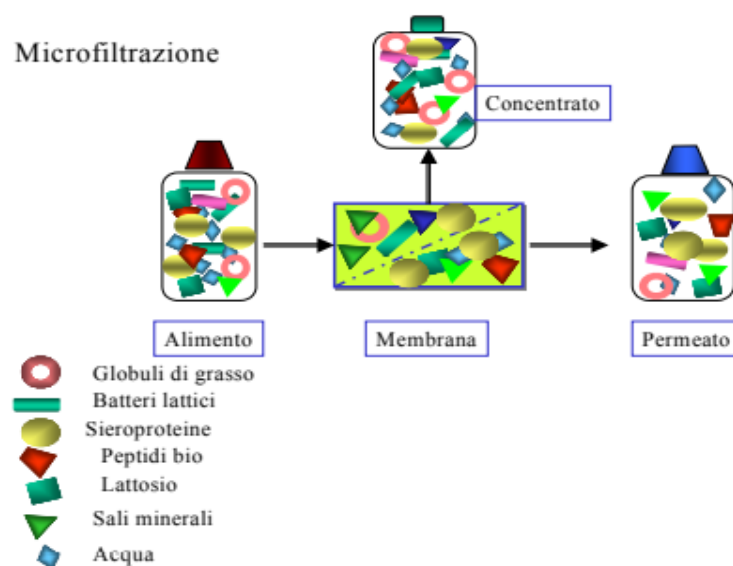
depositano sulla superficie della membrana occludendo i pori, rendendo necessario il lavaggio e la rigenerazione della membrana stessa (Steinhauer et al., 2015).

Microfiltrazione

La microfiltrazione (MF) (Figura 6) utilizza membrane o di tipo polimerico o in ceramica con una pressione di 1,4 bar ed è presente un meccanismo di filtrazione fisica con pori di 0,1-20 μm (Pizzichini et al., 2009), in cui è impiegato un flusso tangenziale ed uno incrociato per contrastare la formazione della torta di retentato.

Il retentato di MF può essere utilizzato come mangime per animali, mentre il retentato di UF deve contenere la maggior parte delle SP, oltre il 97%, peptidi bioattivi (PB) e una concentrazione di lattosio superiore a quella che si ottiene nel permeato di UF (Pizzichini et al., 2006).

Figura 6. Schema grafico di microfiltrazione del siero (Pizzichini et al., 2006)



Ultrafiltrazione (UF)

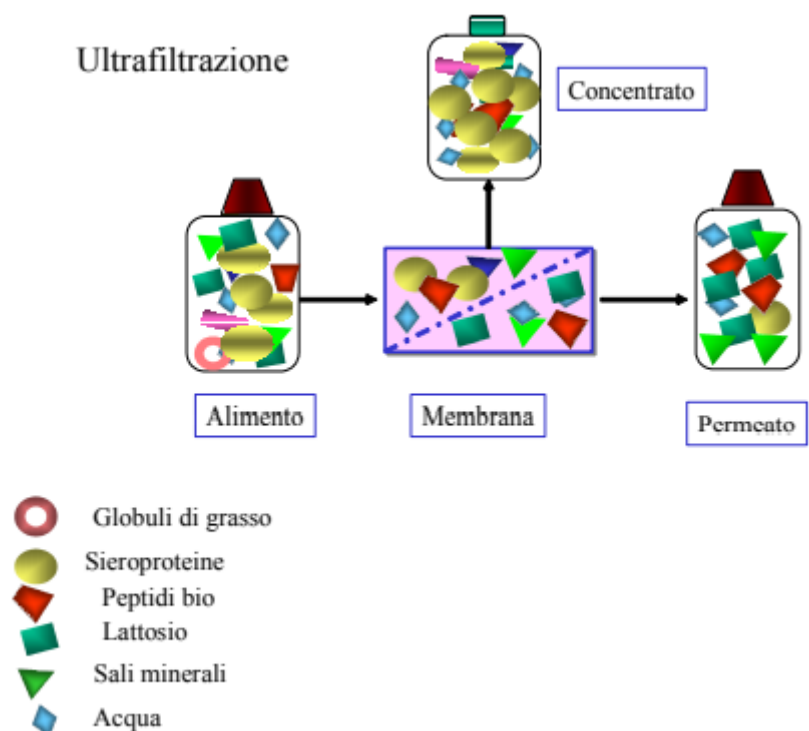
Una volta privato di grasso e carica batterica, il siero può essere ultrafiltrato, vengono utilizzate membrane ceramiche o polimeriche a forma tubolare o cilindrica con una pressione idrostatica di 1-10 bar, è presente una fase di filtrazione/assorbimento e pori di 1-100 kD (Pizzichini et al., 2009). Se viene

applicata la modalità del flusso incrociato con una giusta regolazione di flusso e di pressione, il deposito di sostanze sulla superficie della membrana sarà minore rispetto a MF ma non inevitabile (Marella, 2009).

Da punto di vista chimico il retentato di UF contiene la quantità totale delle SP, almeno il 97% di quelle presenti nell'alimento, ed anche frazioni di caseinomacropeptidi (CMP) ed eventualmente di altri peptidi bioattivi (Pizzichini et al., 2006).

Lo schema della Figura 7 indica il meccanismo di separazione delle molecole nel processo di UF.

Figura 7. Schema della separazione con ultrafiltrazione (Pizzichini et al., 2006)

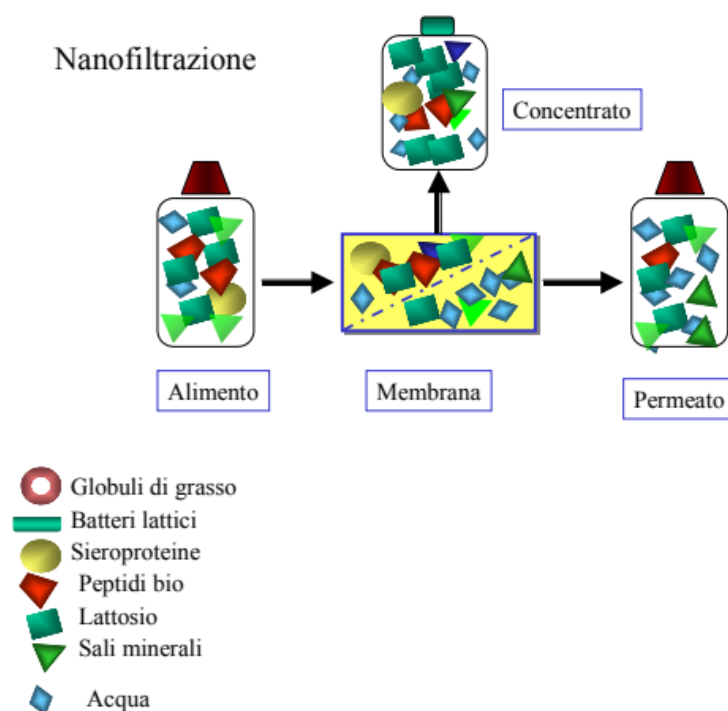


Nanofiltrazione (NF)

La nanofiltrazione (NF), nota anche come osmosi inversa libera o ultrafiltrazione leggera (Marella, 2009), utilizza membrane polimeriche o di materiale composito, con pressione idrostatica di 20-40 bar, si avvale di un meccanismo di solubilità e diffusione, i pori sono di 100-250 D (Pizzichini et al., 2009).

Nello schema grafico di Figura 8, è rappresentato il meccanismo separativo della nanofiltrazione, dove possiamo notare che questa tecnica consente di concentrare il lattosio, la riboflavina e tutte le frazioni proteiche a basso peso molecolare che sono sfuggite al processo di UF, si tratta in particolare di peptidi, quindi il permeato di NF contiene soprattutto sali minerali e tracce di lattosio (Pizzichini et al., 2006)

Figura 8. Schema grafico della separazione in nanofiltrazione (Pizzichini et al., 2006)



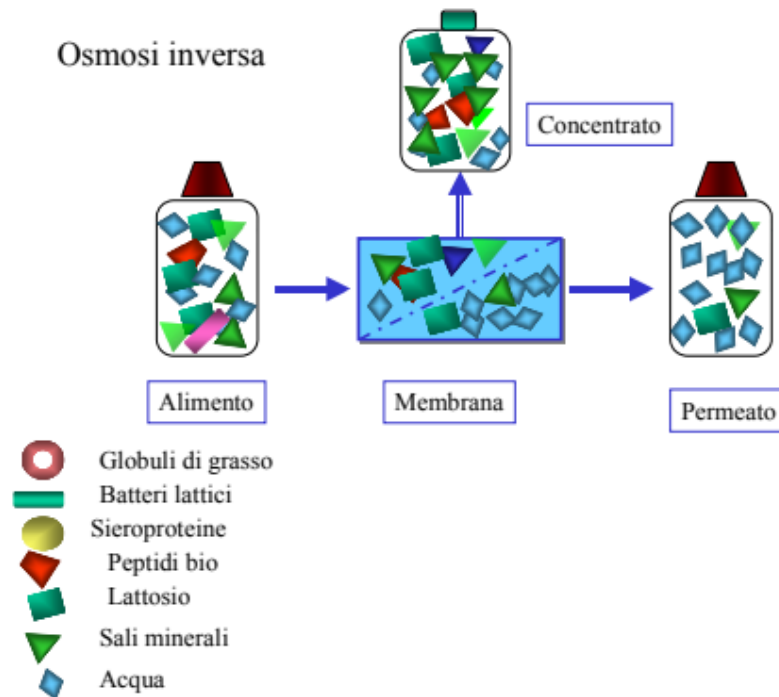
Osmosi inversa (OI)

Questa tecnica utilizza materiali polimerici o compositi, con una pressione idrostatica che va da 15-60 bar, si avvale di un meccanismo di solubilità e diffusione con pori che vanno da 10-100 D; (Pizzichini et al., 2009). Viene utilizzata per l'allontanamento della componente ionica, cioè la maggior parte dei sali minerali, e per il recupero di acqua ultrapura, ovvero del permeato di OI (Pizzichini et al., 2006)

Il permeato di OI è costituito sostanzialmente da acqua quasi distillata che contiene solamente tracce di lattosio e di piccoli frammenti aminoacidici. In media il COD del permeato di OI si attesta fra 60 e 150 ppm di O₂ (Pizzichini et al., 2006).

L'obiettivo di questo processo è quello di conservare il lattosio e le proteine del siero diminuendo la carica minerale fino al 90%. I prodotti ottenuti sono siero demineralizzato e sale (Depuydt, 2008).

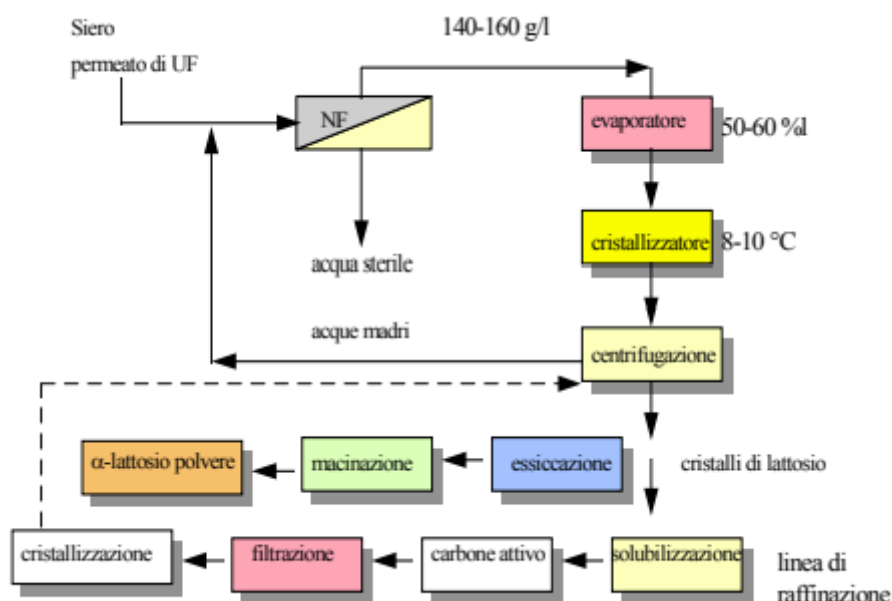
Figura 9. Schema del processo di OI applicato sul permeato di NF. (Pizzichini et al., 2006)



5.4.1.1 Cristallizzazione del lattosio

Grazie all'utilizzazione delle tecnologie di membrana, dal siero di latte possiamo ottenere il lattosio cristallino. Nella figura 10 vengono illustrate le operazioni unitarie del processo, con l'ottenimento di lattosio cristallino a due livelli di purezza.

Figura 10. Schema del processo di produzione del lattosio cristallino (Pizzichini et al., 2006)



La fase di produzione inizia dalla raccolta del permeato di ultrafiltrazione (UF) che viene inviato al processo di nanofiltrazione (NF), permettendo così una concentrazione di esso. A causa del non raggiungimento di una concentrazione adeguata (400/500 g/L) essenziale per la cristallizzazione, il concentrato deve subire un'ulteriore evaporazione sottovuoto. Questa fase è molto delicata, in quanto, se vengono superati i 90 °C, può formarsi l'anomero beta o forma anidra che potrebbe precipitare.

Il prodotto ottenuto da questa fase di evaporazione ha una consistenza di sciroppo denso di colore giallo intenso per la presenza della riboflavina.

Successivamente il concentrato di lattosio dall'evaporatore passa nel cristallizzatore, dove il graduale raffreddamento sotto lenta agitazione conduce alla formazione dei cristalli; Questo stadio è molto delicato perché si devono ottenere dei cristalli grandi (minor superficie sviluppata) che precipitino rapidamente senza assorbire impurità. (Pizzichini et al., 2006)

Grazie alla centrifugazione vengono separate le acque madri, che subiranno poi, un processo di nanofiltrazione. I cristalli di lattosio ottenuti dopo la centrifugazione possono essere lavorati in due differenti modalità, possono essere indirizzati verso

l'essiccatore per l'ottenimento di una polvere di lattosio grezzo oppure per ottenere un prodotto purificato, subendo un processo di raffinazione.

Nello stadio di raffinazione il lattosio viene ridisciolti in acqua calda a 105°C con aggiunta di carbone attivo o terre filtranti, questi verranno successivamente filtrati ad elevate temperature per evitare cristallizzazioni premature, successivamente si procederà alla cristallizzazione della soluzione purificata di lattosio, ripercorrendo il processo descritto precedentemente (Pizzichini et al., 2006)

I cristalli di lattosio in base alla loro purezza hanno differenti valori commerciali. Dalla prima cristallizzazione si ottiene un lattosio al 97% con le caratteristiche di "food grade" destinato soprattutto all'industria dei gelati. Dalla seconda cristallizzazione si ottiene un lattosio con una purezza del 99,9%, utilizzabile dall'industria farmaceutica (Pizzichini et al., 2006).

6. UTILIZZI INDUSTRIALI E/O DOMESTICI DEL SIERO E DEI PRODOTTI DA ESSO ESTRATTI

Come abbiamo visto nei capitoli precedenti, il siero di latte, in passato era considerato un sottoprodotto della produzione di formaggio e molto spesso veniva trattato come rifiuto procedendo con il suo smaltimento.

Tradizionalmente veniva utilizzato per la produzione di ricotta, grazie all'utilizzo delle elevate temperature (> 80°C) che permettono la denaturazione delle proteine. Queste se denaturate si aggregano, spesso con l'aggiunta di acido citrico, formando una cagliata che viene poi trasformata in ricotta (Pintado et al., 2001).

In passato il siero era impiegato come fertilizzante agricolo, grazie alla presenza di sali minerali, sostanza organica e nutrienti in esso contenuti oppure per l'alimentazione animale (in una forma non modificata) (Watson et al., 1977). Entrambi gli utilizzi presentano delle limitazioni, in quanto, l'applicazione di grandi quantità di siero di latte come fertilizzante lascia depositi salini nel terreno (Kosikowki, 1979), danneggiando la fertilità di quest'ultimo a causa della presenza di fosforo, calcio, sodio, azoto, potassio, magnesio, etc. Comporta anche un incremento della conducibilità del terreno, che a sua volta, porta alla diminuzione dell'aerazione e dell'infiltrazione di acqua. La sua utilizzazione per l'alimentazione

animale (di solito diluito con acqua potabile) invece, fornisce proteine di alta qualità e lattosio come fonti di energia, oltre a vitamine idrosolubili e sali minerali, ma un quantitativo eccessivo di minerali e lattosio possono causare problemi agli animali da allevamento che ne limita l'utilizzo nel settore zootecnico (Sienkiewicz & Riedel, 1990). Al giorno d'oggi entrambi gli usi presentano difficoltà anche relative ai costi di trasporto elevati che rendono queste soluzioni poco pratiche per le quantità di siero prodotte.

In realtà grazie a degli studi è risultato possibile continuare l'utilizzazione del siero in agricoltura, ma è bene diluirlo in modo da ottenere una concentrazione di sali totali compresa tra 40 e 60 kg/ha, e prestare attenzione affinché l'acqua di irrigazione non raggiunga la falda sotterranea.

Per quanto riguarda invece l'utilizzo nella mangimistica il siero è stato contingentato nel regolamento speciale siero di latte con la delibera n°6 del 18 aprile 2011 dal COMITATO DI FILIERA DEL SIERO DI LATTE con sede nella camera di commercio I.A.A di Parma.

Come citato nel documento: *“Le categorie di prodotto contrattabili sono le seguenti: siero di latte e siero di latte trasformato. Quelle invece contrattabili per la Borsa Merci Telematica sono: siero di latte per uso zootecnico e siero di latte per uso industriale.*

Le tipologie di prodotti contrattabili sulla Borsa Merci Telematica Italiana per la categoria “Siero di latte trasformato” (in sigla “Siero di latte trasformato”) sono le seguenti:

- *Siero di latte in polvere (SWP)*
- *Siero di latte concentrato*
- *Sieroproteine concentrate in polvere (WPC)*
- *Sieroproteine concentrate*
- *Siero di latte concentrato e cristallizzato*
- *Siero di latte concentrato demineralizzato*
- *Lattosio (Lattosio alimentare, Lattosio farmaceutico, Lattosio raffinato)*

- *Derivati del lattosio (gluco-oligosaccaridi, lattulosio, tagatosio, acido lattobionico)*

Fatte salve le specifiche indicate nella scheda di prodotto, le caratteristiche qualitative del “Siero di latte” e del “Siero di latte trasformato”, devono rispondere alle caratteristiche previste dalle seguenti normative e regolamenti: Reg. CE n.1774/2002 (Norme sanitarie relative ai sottoprodotti di origine animale non destinati al consumo umano), Reg. CE n.852/2004 (Regolamento sull’igiene dei prodotti alimentari), Reg. CE 853/2004 (Norme specifiche in materia di igiene per gli alimenti di origine animale), Reg. CE n.79/2005 (attua il Reg. CE n.1774/2002 relativamente all’uso del latte, dei prodotti a base di latte e dei sottoprodotti del latte).

Di seguito vengono definite le categorie di prodotto negoziabile:

- *Siero di latte: per siero di latte si intende il prodotto che rimane dalla lavorazione del latte a seguito del processo di cagliatura.*
- *Siero di latte trasformato.*
- *Siero di latte in polvere (SWP): il Siero di latte in polvere è ottenuto mediante processi di concentrazione per evaporazione o per osmosi, cristallizzazione ed essiccamento con sistema spray-drying.*
- *Siero di latte concentrato: il Siero di latte concentrato ha un residuo secco del 18- 20%, se ottenuto mediante concentrazione per osmosi inversa, oppure del 30-60%, se ottenuto mediante evaporazione a bassa temperatura sottovuoto (concentrazione per evaporazione).*
- *Sieroproteine concentrate in polvere (WPC): le sieroproteine concentrate in polvere provengono dalla concentrazione del contenuto proteico del siero di latte mediante separazione a membrana. La percentuale di contenuto proteico sul secco deve essere compresa tra il 30-80%.*
- *Sieroproteine concentrate: le sieroproteine concentrate provengono dalla concentrazione del contenuto proteico del siero di latte mediante separazione a membrana. La percentuale di contenuto proteico sul secco deve essere compresa tra il 20-30%.*

- *Siero di latte concentrato e cristallizzato: il Siero concentrato e cristallizzato ha un residuo secco superiore al 55% il cui lattosio ha subito il processo di cristallizzazione mediante un raffreddamento.*
- *Siero di latte concentrato demineralizzato: il Siero di latte concentrato demineralizzato ha un limite di concentrazione di sali pari al 4,25% calcolato sulla quantità di solidi in esso contenuto.*
- *Lattosio alimentare è un lattosio in polvere, con titolo non inferiore al 99%. Può essere recuperato o attraverso la cristallizzazione dal siero concentrato tal quale o dal siero concentrato deproteinato, oppure utilizzando il permeato derivato dall'Ultrafiltrazione del siero stesso, mediante processi di concentrazione, cristallizzazione, centrifugazione, lavaggio, essiccamento e macinazione. Il Lattosio farmaceutico è un lattosio in polvere, presente in misura non inferiore al 99,8% ottenuto mediante gli stessi processi di produzione del lattosio alimentare, con l'aggiunta di almeno un processo di ricristallizzazione. Il Lattosio raffinato è lattosio in polvere, presente in misura non inferiore al 99,5% ottenuto aggiungendo, al processo proprio del lattosio alimentare, quello di raffinazione.*
- *Derivati del lattosio: i derivati del lattosio sono i prodotti ottenuti mediante idrolisi enzimatica del lattosio alimentare.”*

In tale regolamento sono anche indicati i parametri chimico fisici del siero destinati alla concentrazione e polverizzazione per l'utilizzo industriale o zootecnico (Tabella 12)

Tabella 12. Parametri chimico – fisici del siero di latte (REGOLAMENTO SPECIALE SIERO DI LATTE Adottato dalla Deputazione Nazionale con delibera n 6 del 18 aprile 2011)

<i>Parametri chimico - fisici</i>	<i>Siero industriale</i>	<i>Siero zootecnico</i>
<i>pH</i>	>6	4,5-6
<i>Temperatura</i>	6-8°C	-
<i>Residuo secco</i>	6-6,3%	6-6,3%
<i>Proteine s.s</i>	>12,5%	>12,5%
<i>Sali minerali s.s.</i>	8,5% ± 0,5%	8,5% ± 0,5%
<i>Lattosio s.s.</i>	>70%	>60%
<i>Grassi s.s.</i>	<1%	<1%

Oggigiorno circa il 50% del siero prodotto a livello mondiale viene trattato e processato per poi essere riutilizzato nell'industria alimentare. Di questa parte, il 45% viene utilizzato direttamente in forma liquida, il 30% come siero di latte in polvere, il 15% come prodotto a base di lattosio o derivati del lattosio, e il resto come siero proteine concentrate (Gonzalez Siso, 1996).

È stata studiata a lungo un'utilizzazione del siero anche come ingrediente per la produzione di bevande destinate al consumo umano. Ad esempio, per la creazione di una bevanda a bassa gradazione alcolica (<1% di alcol contenuto) (Sienkiewicz et al., 1990), whey beer (Sienkiewicz et al., 1990), whey wine (Jeličić et al., 2008) e champagne al siero di latte (Sienkiewicz et al., 1990). La creazione di questi prodotti comporta l'aggiunta di alcuni additivi tra cui saccarosio, malto e la fermentazione della miscela con lieviti come *Kluyveromyces fragilis* o *Saccharomyces lactis* (Holsinger et al., 1974). Tuttavia, finora questi prodotti non sono riusciti a diffondersi al di fuori dei mercati nazionali (Jelen, 2009).

Il burro di siero di latte è un altro potenziale prodotto alimentare che può essere creato dal siero di latte. La crema di siero di latte viene rimossa dal siero di latte dopo la produzione di formaggio, ma prima di essere trasformato per essiccazione a spruzzo o concentrazione di proteine. Il burro di siero di latte è risultato essere leggermente più morbido del burro normale ma con un sapore più salato (Jinjarak et al., 2006). Questo prodotto, tuttavia, ha un fascino commerciale limitato e non rappresentano un modo per valorizzarne grandi quantità.

Il latte a base di siero, destinato all'alimentazione degli infanti, in sostituzione del latte materno potrebbe rappresentare un'ottima alternativa per sfruttare questo sottoprodotto. Grazie alle sue caratteristiche compositive, poiché contiene il giusto rapporto proteine/caseine (60/40) e un ridotto contenuto di minerali, grazie all'aggiunta di ferro, fluoro e vitamina D, potrebbe soddisfare le esigenze nutrizionali del neonato nei suoi primi 4-6 mesi di vita.

Altre possibilità di utilizzo del siero prevedono dei trattamenti preliminari per ottenere diversi tipi di prodotti quali il siero condensato, il siero in polvere acido, dolce, demineralizzato, delattosidato, deproteinizzato. La polvere dolce di siero è ampiamente utilizzata, come additivo, in caseifici, panifici, industrie dolciaria,

industrie di trasformazione della carne, nelle industrie specializzate nella produzione di latte per gli infanti grazie alle sue capacità di migliorare il sapore e per le sue capacità di rendere più teneri i prodotti. Mentre la polvere acida di siero è utilizzata prevalentemente come agente coagulante nei processi di caseificazione oltre che come additivo per la produzione di salse di formaggio (nelle quali si cerca di raggiungere un sapore sapido e piccante) e bevande a base di frutta (per mantenere un pH basso) (Kosikowski, 1979).

Il siero può essere utilizzato anche come substrato per la crescita di microorganismi, e/o per la produzione di molecole ad elevato valore aggiunto.

Più specificatamente possono essere prodotti aminoacidi (lisina, treonina, acido glutammico), vitamine e acidi molto utilizzati nell'industria alimentare.

Alcuni esempi possono essere la produzione di acido propionico utilizzato come conservante, erbicida e intermedio chimico, la produzione di acido succinico oppure la generazione di acido lattico che viene utilizzato per produrre ossido di propilene, polimero di acido polilattico (PLA) e glicole propilenico o fibre acriliche (Kasmi, 2016)

Dal siero possiamo ottenere anche acido acetico per produrre calcio magnesio acetato (CMA), che viene utilizzato in grandi quantità per lo sbrinamento di strade e aeroporti. L'acido acetico è anche usato come materia prima per la produzione di bioplastiche (es. poliidrossialcanoati (PHA)).

Questo biopolimero prodotto dal siero di latte (PHA) ha mostrato caratteristiche molto simili a poli (etilene tereftalato) (PET), poli (stirene) (PS), poli (etilene) (PE) e poli (propilene) (PP) (Kasmi, 2016). Tuttavia, il processo di produzione di materie plastiche a base biologica dal siero di latte necessita ancora di studi e ottimizzazione.

Un ulteriore utilizzo del siero consiste nella fermentazione, da parte di microorganismi, ad esempio batteri lattici, che consumano il lattosio allo scopo della sua bioconversione e/o con la produzione di metano, idrogeno ed etanolo mediante digestione anaerobica. Questi prodotti possono rappresentare una fonte di energia rinnovabile molto interessante soprattutto negli ultimi decenni dove le ricerche si sono concentrate sulle 'Tecnologie Green' (Kasmi, 2016).

Grazie all'utilizzo di microrganismi, la valorizzazione del siero risulta ancora più efficiente, sfruttando le capacità di alcuni batteri quali, specie di *Xanthomonas campestris*, *Azotobacter chroocum*, ceppo di *Leuconostoc mesenteroides* possono essere prodotti rispettivamente polisaccaridi come la gomma xantana, biopolimeri come il poli- β -idrossi butirato (PHB) ed esopolisaccaridi come i destrani (Kasmi, 2016).

Oggi i potenziali utilizzi delle componenti del siero come additivi funzionali e nutrizionali sono numerosi (Tabella 13)

Tabella 13. *Principali impieghi e processi delle frazioni ottenute dal siero di latte (Lorient et al., 1991)*

PRODOTTI	PROCESSI	IMPIEGHI SUGGERITI
<i>Caseina β</i>	Microfiltrazione MF del caseinato a freddo MF/acidificazione del latte a freddo Coagulazione a freddo del caseinato di calcio	Agente schiumogeno Agente funzionale in formaggi Sorgente di peptidi bioattivi
<i>Caseina privata della caseina β</i>	Prodotti derivati dalla separazione della caseina	Ingredienti da aggiungere al latte per formaggio Agente emulsionante
<i>Paracaseinato di calcio privato di caseina β</i>	Prodotti derivati dalla separazione della caseina	Standardizzazione del latte Agente funzionale per prodotti alimentari
<i>Caseina micellare</i>	Retentato da MF del latte Coagulo dopo acidificazione per elettrodialisi	Agenti funzionali o ingredienti per formaggi fusi o d'imitazione Agente schiumogeno
<i>WPC sgrassato</i>	Permeato da MF del siero	Agente schiumogeno
<i>Fosfolipidi del latte</i>	Retentato da MF del siero	Agente emulsionante
<i>Frazione ricca di α-lattalbumina</i>	Precipita selettivamente con correzione della forza ionica e del pH del siero	Proteine per alimenti per l'infanzia
<i>β-lattoglobulina</i>	Supernatante ottenuto dal processo di preparazione della lattoalbumina	Agente emulsionante Agente gelificante
<i>WPC con diverse proporzioni di α-lattalbumina e β-lattoglobulina</i>	Selettivi adsorbimenti ed elezioni per scambio ionico	Agenti schiumogeni e gelificanti
<i>Isolato di proteine dal siero</i>	Scambio ionico	Agente emulsionante – gelificante Chiarificante di soluzioni

Lattosio

Il lattosio può essere impiegato come aggiunta nel latte destinato ai neonati oppure grazie alla sua consistenza, il sapore neutro e il basso grado di dolcezza può essere impiegato come eccipiente in terapie farmacologiche (Yves, 1979). Nel settore farmaceutico risultano avere un elevato valore commerciale anche alcuni derivati del lattosio come gli acidi lattobionici e il lattulosio (disaccaride ottenuto dall'isomerizzazione del lattosio in soluzione alcalina). In particolare, il lattulosio stimola la proliferazione dei bifidobatteri nel tratto intestinale ed è largamente utilizzato nel settore zootecnico.

Il lattosio contribuisce al raggiungimento della colorazione e dell'aroma adeguati in diversi prodotti alimentari, ma una sua idrolisi porta all'ottenimento di galattosio, che a sua volta è ampiamente impiegato per il suo potere dolcificante.

Una pratica sempre più comune per l'utilizzazione di lattosio è proprio la fermentazione di questo con produzione di etanolo.

Sieroproteine

Alla luce degli studi condotti sul siero nell'ultimo trentennio e sulla base delle possibili applicazioni delle sue componenti chimiche, sono emerse importanti informazioni scientifiche che dimostrano il grande valore delle proprietà funzionali delle SP. Le SP hanno inoltre la funzione di "fat replacer", cioè di sostituire il sapore del grasso e di esaltare il gusto e gli aromi dei cibi in generale (Pizzichini et al., 2006). Queste proprietà hanno consentito di impiegare largamente i sieroderivati nell'industria alimentare per la produzione di pasta, cioccolato, biscotti, maionese, sughi, prodotti per l'infanzia ecc.

Grazie alle numerose evidenze sperimentali che sensibilizzavano l'influenza positiva di SP, di galatto-oligo-saccaridi (GOS) e di peptidi bioattivi, ha cominciato a farsi strada a livello internazionale l'esigenza di recuperare e purificare queste molecole, per impiegarle nell'industria farmaceutica e alimentare.

Oggi sono migliaia le industrie che producono polvere di siero come integratori e come sostanze nutraceutiche che migliorano la salute e lo stato di benessere dei

consumatori. La domanda di integratori alimentari, impiegati per lo più da sportivi, aumenta sensibilmente ogni anno di circa il 13%, a fronte di un'offerta di materia prima sempre più ridotta (Pizzichini et al., 2006). Gli integratori a base di siero sono costituiti principalmente da sieroproteine purificate, in cui viene indicato anche il processo di produzione, in particolare le confezioni indicano la tecnica di ultrafiltrazione che la purificazione del prodotto è stata ottenuta con resine a scambio ionico (Pizzichini et al., 2006). Con la tecnica di ultrafiltrazione si ottengono due prodotti: il permeato (polvere di permeato, polvere di lattosio, acqua madre) e il retentato (WPI, whey protein isolate e WPC, whey protein concentrate) (Depuydt, 2008), queste ultime sono le più comuni in commercio.

Le proteine del siero di latte hanno utilizzazioni nell'industria alimentare grazie anche alle proprietà fisiche che consentono loro di agire come emulsionanti, agenti gelificanti, leganti dell'acqua, agenti schiumogeni, montanti nei sistemi alimentari (Walsh, 2014).

7. CASO STUDIO

Introduzione al caso

Negli ultimi anni vari studiosi si sono concentrati sulla produzione di proteine da cellula singola (SCP) utilizzando come materia prima il siero di latte.

L'attenzione nei confronti delle SCP è notevolmente aumentata negli ultimi anni in quanto sono risultate un'ottima alternativa alle proteine di origine animale o vegetale. Le SCP vengono ottenute grazie alle attività metaboliche di lieviti, alghe, muffe e batteri (Nikos e Jelle, 2012). Recentemente la produzione di SCP è sempre più utilizzata per la valorizzazione del Food Waste (Kannah et al., 2020).

La produzione di SCP può essere effettuata mediante fermentazione di siero di latte intero o siero di latte permeato attraverso l'utilizzazione diretta di lattosio da parte di microrganismi. Il lattosio può essere convertito in biomassa da alcuni microrganismi, i principali studi sono stati fatti utilizzando dei lieviti, più specificatamente ceppi di *Kluyveromyces fragilis* o *Kluyveromyces marxianus*, che offrono buone rese di crescita in quanto in grado di utilizzare lattosio come fonte di carbonio e sono riconosciuti come GRAS (Generally Recognized As Safe) (Anvari

et al., 2011). Questo genere di lieviti è risultato quello di maggiore interesse per questo tipo di produzione, in quanto in grado di utilizzare lattosio come principale fonte di carbonio, economici e inoltre, date le maggiori dimensioni rispetto ai batteri, possono essere separati dalla matrice più facilmente (Kasmi, 2016).

La produzione di SCP è influenzata da alcuni fattori: microrganismi, nutrienti, condizioni di coltura ed il tipo di processo di fermentazione. La crescita microbica infatti, richiede carbonio e azoto come principali fonti di substrato ed altri nutrienti essenziali come lo zolfo, il fosforo ed altri elementi minori (Kasmi, 2016).

Condizioni di coltura

Per quanto riguarda le condizioni di coltura risulta importante mantenere per tutta la durata del processo fermentativo un pH inferiore a 4.5, per eliminare la possibilità di contaminazione da parte di batteri patogeni e per una crescita ottimale del lievito deve essere mantenuto un intervallo di temperatura tra 25 °C e 35°C durante tutto il processo. Un'altra condizione fondamentale è la percentuale di ossigeno disciolto (DO) (o percentuale di saturazione) che deve essere mantenuta al di sopra del 30%, in quanto il DO critico per la conversione del lattosio in biomassa di lievito è superiore al 25% della saturazione, altrimenti, il metabolismo della coltura del lievito cambia in un tipo misto di ossidazione-fermentazione che porta alla formazione di metaboliti intermedi (ad es. alcool, aldeidi ed esteri) (Carlotti et al., 1991).

Le possibili metodiche di fermentazione sono: batch, fed – batch e metodo continuo. Il più conveniente però è risultato il fed – batch perché può fornire un'elevata densità cellulare, è possibile controllare la concentrazione del substrato, verificare la produzione di sottoprodotti, vigilare sugli effetti della repressione catabolica ed anche consentire la ricarica di eventuali perdite d'acqua per evaporazione (Kasmi, 2016).

Microrganismi

Generalmente per la produzione di SCP vengono utilizzati delle specie appartenenti ai generi *Kluyveromyces*, *Candida* e *Trichosporon* che possono metabolizzare

naturalmente il lattosio, e che hanno mostrato un notevole potenziale di degradazione del carico organico delle acque reflue (Kasmi, 2016).

L'utilizzazione di questi microrganismi risulta fondamentale in quanto può risolvere, almeno in parte, il principale problema dell'industria lattiero casearia riguardante la riduzione dell'impatto ambientale dei reflui di lavorazione.

Come detto precedentemente, la specie *Kluyveromyces marxianus* è quella più utilizzata e ampiamente studiata per la produzione di SCP da siero di latte (Kasmi, 2016).

Per quanto riguarda il suo potenziale di abbattimento del COD, *Kluyveromyces* è in grado di raggiungere un tasso di riduzione dell'80% adottando un processo di fermentazione del siero di latte in batch con un inoculo ad alta densità cellulare (10 g/L) (Yadav et al. 2014)

Tuttavia, dati di letteratura indicano come le culture miste si dimostrerebbero più vantaggiose delle colture pure come possiamo vedere nella tabella 11.

Altri studi hanno confermato la capacità di *K. lactis* e *K. marxianus* di produrre SCP e l'enzima β -galattosidasi. La principale caratteristica comune di *K. lactis* e *K. Marxianus* è la capacità di assimilare il lattosio e di utilizzare questo zucchero come fonte di carbonio. (Kasmi, 2016).

Anche la coltura mista di *K. lactis* e *K. marxianus* con *S. cerevisiae* può essere utilizzata come alternativa per l'abbattimento del COD del siero di latte raggiungendo una diminuzione dell'88%.

Alcuni risultati hanno dimostrato che la cultura mista di *K. marxianus* e *Candida krusei* presenta un ottimo potenziale per produrre SCP con simultanea rimozione del COD in condizioni operative estreme (Kasmi, 2016).

Tabella 11. Efficienza di rimozione del COD e produzione di biomassa (SCP) di alcune specie microbiche dagli effluenti dell'industria lattiero-casearia (Kasmi, 2016)

Strains	Substrate	Purpose	Inlet COD (g L ⁻¹)	Removal rate (%)	Conversion rate (%)	Specification	References
<i>K. lactis</i>	Deproteinized sweet cheese whey	SCP production	-	-	23–37	Batch, Enriched matrix	(Gana et al., 2001)
<i>K. marxianus</i>	Diluted cheese whey	COD removal and SCP production	50	55–78.5	12–19	Batch, high cell density, continuous	(Yadav et al., 2013)
<i>K. marxianus</i>	Deproteinized cheese whey	COD removal and SCP production	-	88.5	30	Batch, nitrogen supplementation	(Anvari et al., 2011)
<i>C. krusei</i>	Pretreated bactofugate whey	COD removal	3.3	78	-	Batch, without supplementation	(Kasmi et al., 2016)
<i>C. krusei</i>	Pretreated de creaming waters whey	COD removal	11	45	-	Batch, without supplementation	(Kasmi et al., 2016)
<i>C. krusei</i>	Residual yoghurt whey	COD removal	43.2	78	-	Batch, without supplementation	(Kasmi et al., 2014)
<i>C. kefyr</i>	Deproteinized sweet cheese whey	SCP production			45-49.5	Batch, enriched matrix	(Gana et al., 2001)
<i>K. lactis</i> + <i>S. cerevisiae</i>	Deproteinized cheese whey	COD removal	30	88.5	-	Continuous, Nitrogen supplementation	(Moeini et al., 2004)

<i>K. marxianus</i> + <i>C. krusei</i>	Deluted cheese whey	COD removal and SCP producti on	30	80.2	37.2	Batch, without supplementat ion	(Yadav et al., 2015)
---	---------------------------	---	----	------	------	--	----------------------------

Conclusion

L'utilizzo del siero per la produzione di biomassa di lievito che utilizza il lattosio presente formando biomassa proteica, permette una contemporanea riduzione del COD del siero di latte di circa 10000 ppm (Mawson, 1994) dato che il lattosio è in gran parte responsabile dell'alto BOD e COD.

La biotrasformazione del siero di latte o del siero di latte permeato per la produzione di SCP è un'ottima utilizzazione del siero di latte in quanto presenta numerosi vantaggi come la semplicità del processo di trattamento e la riduzione del carico inquinante che risulta essere un grosso problema da gestire.

Tuttavia, ci sono alcuni fattori limitanti come l'economia del processo ed il problema di contaminazioni (Kasmi, 2016) che dimostrano la necessita di ulteriori studi e miglioramenti di questa pratica.

8. CONCLUSIONI

Questo elaborato ha preso in considerazione le problematiche relative ai rifiuti alimenti, soprattutto dei sottoprodotti derivanti dalle produzioni dell'industria alimentare che possono essere ulteriormente sfruttati, producendo componenti ad alto valore aggiunto e allo stesso tempo causando un minor impatto ambientale.

Più specificatamente, è stata messa in evidenza l'importanza della valorizzazione del siero di latte grazie al potenziale dei componenti in esso contenuti. Sono state dunque riportate le proprietà biomediche, nutritive e funzionali delle sostanze presenti nel siero (proprietà antiossidanti, anti-ipertensive, antitumorali, ipolipidemiche, antivirali, antibatteriche etc.). Evidenziando le caratteristiche delle sieroproteine, del lattosio e dei peptidi bioattivi in particolare.

Sono state inoltre messe in evidenza le principali strategie di recupero e di gestione del siero, sono stati messi in luce i principali prodotti e molecole ad elevato valore aggiunto che possono essere ottenuti ed i rispettivi utilizzi industriali. Sono altresì state prese in considerazione quelli che sono i regolamenti e norme vigenti da rispettare riguardo la gestione del siero di latte e dei prodotti da esso derivati.

Nel capitolo 7 è stata riportata una delle pratiche di trattamento del siero di latte che potrebbe, almeno in parte, ridurre la problematica dell'impatto ambientale che riguarda questo sottoprodotto. Infatti, la biotrasformazione del siero di latte o del siero di latte permeato per la produzione di SCP rappresenta un'ottima modalità di valorizzazione di questo sottoprodotto in quanto presenta numerosi vantaggi come la semplicità del processo di trattamento e la riduzione del carico inquinante che risulta essere un grosso problema da gestire.

Tuttavia, sebbene le strategie esistenti per gestire i sottoprodotti lattiero-caseari contribuiscano a ridurre l'impatto inquinante, è necessario valorizzarli ulteriormente. Tra i trattamenti biologici, gli approcci fermentativi che utilizzano lieviti, LAB e batteri acetici offrono l'opportunità di consolidare processi biotecnologici già utilizzati e di introdurre strategie innovative di bioconversione che uniscono la valorizzazione di questi sottoprodotti con la possibilità di produrre prodotti alimentari ad alto valore aggiunto. Sulla base delle attuali conoscenze, esiste un ampio potenziale ma sono necessari ulteriori passaggi di ottimizzazione per migliorare la possibile applicazione a livello industriale.

Per concludere, risulta essere importante una maggiore mobilitazione, soprattutto in Italia, verso la valorizzazione del siero di latte in quanto risulta essere una fonte di ricchezza straordinaria. È importante far notare le grandi proprietà di questi prodotti impegnandosi a promuovere un'utilizzazione delle materie prime sempre più sostenibile e responsabile, specialmente a livello industriale. Le continue innovazioni in questo settore possono aiutarci, se sfruttate correttamente, a ridurre lo spreco alimentare riuscendo così a trasformare ciò che deriva dalle fasi della filiera lattiero-casearia, non come prodotto di interesse, in una fonte di sostenibilità.

9. BIBLIOGRAFIA, SITOGRAFIA E REGOLAMENTI

Bibliografia

Abd El-Salam, M. H., El-Shibiny, S., & Buchheim, W. (1996). Characteristics and potential uses of the casein macropeptide. *International Dairy Journal*, 6(4), 327-341.

Alexandratos, N., & Bruinsma, J. (2012). World agriculture towards 2030/2050: the 2012 revision.

ANPA, 1999. Primo rapporto sui Rifiuti Speciali. In: Stima della produzione di rifiuti speciali di alcuni comparti industriali attraverso studi di settore, 88-111.

Anvari, M., & Khayati, G. (2011). Submerged yeast fermentation of cheese whey for protein production and nutritional profile analysis. *Advance Journal of Food Science and Technology*, 3(2), 122-126.

Asunis, F., De Gioannis, G., Dessì, P., Isipato, M., Lens, P. N., Muntoni, A., ... & Spiga, D. (2020). The dairy biorefinery: Integrating treatment processes for cheese whey valorisation. *Journal of Environmental Management*, 276, 111240.

Batchelder, B. T. (1987). Electrodialysis applications in whey processing. *Bulletin-Federation Internationale de Laiterie (Belgium). International Dairy Federation. no. 212.*

Brans, G. B. P. W., Schroën, C. G. P. H., Van der Sman, R. G. M., & Boom, R. M. (2004). Membrane fractionation of milk: state of the art and challenges. *Journal of Membrane Science*, 243(1-2), 263-272.

Brody, E. P. (2000). Biological activities of bovine glycomacropeptide. *British Journal of Nutrition*, 84(S1), 39-46.

Carlotti, A., Jacob, F., Perrier, J., & Poncet, S. (1991). Yeast production from crude sweet whey by a mixed culture of *Candida kefyr* LY496 and *Candida valida* LY497. *Biotechnology letters*, 13(6), 437-440.

Cheryan, M. (1998). *Ultrafiltration and microfiltration handbook*. CRC press.

Clare H., E. S. (1999). "Bioactive peptides: a prospectus." *Journal of Dairy Science* 83: 1187-1195

De Noni, I. V. A. N. O. (2000). *Scienza del latte: principi di tecnologia del latte e dei derivati*.-3.

Depuydt N. (2008). L'utilizzo dei derivati del siero nell'industria alimentare. Estrapolato da:
http://www.sardegnaicerche.it/documenti/13_143_20081215105700.pdf

De Witt, J. N. (2001). *Lecture's Handbook on Whey and Whey Product*. European Whey Products Association. Brussels, Belgium.

Eisenstein, J., Roberts, S. B., Dallal, G., & Saltzman, E. (2002). High-protein weight-loss diets: are they safe and do they work? A review of the experimental and epidemiologic data. *Nutrition reviews*, 60(7), 189-200.

Ercoli, L., Bonari, E., & Barresi, F. (2007). Acque reflue dei caseifici. *linee guida per l'utilizzazione agronomica delle acque di vegetazione e delle acque reflue da aziende agroalimentari*. APAT e Agenzia per la protezione dell'ambiente e per i servizi tecnici, 81-100.

Ergüder, T. H., Tezel, U., Güven, E., & Demirer, G. N. (2001). Anaerobic biotransformation and methane generation potential of cheese whey in batch and UASB reactors. *Waste management*, 21(7), 643-650.

Gana, S., & Touzi, A. (2001). Valorisation du lactosérum par la production de levures lactiques avec les procédés de fermentation discontinue et continue. *Rev. Energ. Ren*, 1, 51-58.

Gänzle, M. G., Haase, G., & Jelen, P. (2008). Lactose: crystallization, hydrolysis and value-added derivatives. *International Dairy Journal*, 18(7), 685-694.

Galanakis, C. M. (2012). Recovery of high added-value components from food wastes: conventional, emerging technologies and commercialized applications. *Trends in Food Science & Technology*, 26(2), 68-87.

Heine, W. E., Klein, P. D., & Reeds, P. J. (1991). The importance of α -lactalbumin in infant nutrition. *The Journal of nutrition*, 121(3), 277-283.

Holsinger, V. H., Posati, L. P., & DeVilbiss, E. D. (1974). Whey beverages: a review. *Journal of dairy science*, 57(8), 849-859.

Jayaprakasha, H. M., & Brueckner, H. (1999). Whey protein concentrate: a potential functional ingredient for food industry. *Journal of food science and technology (Mysore)*, 36(3), 189-204.

Jeličić, I., Božanić, R., & Tratnik, L. (2008). Whey based beverages-new generation of dairy products. *Mljekarstvo*, 58(3), 257-274.

Jinjarak, S., Olabi, A., Jiménez-Flores, R., & Walker, J. H. (2006). Sensory, functional, and analytical comparisons of whey butter with other butters. *Journal of dairy science*, 89(7), 2428-2440.

Kannah, R. Y., Merrylin, J., Devi, T. P., Kavitha, S., Sivashanmugham, P., Kumar, G., & Banu, J. R. (2020). Food waste valorization: Biofuels and value added product recovery. *Bioresource Technology Reports*, 100524.

Kasmi, M., Hamdi, M., & Trabelsi, I. (2017). Eco-friendly process combining physical–chemical and biological technics for the fermented dairy products waste pretreatment and reuse. *Water Science and Technology*, 75(1), 39-47.

Kasmi, M. (2018). Biological processes as promoting way for both treatment and valorization of dairy industry effluents. *Waste and biomass valorization*, 9(2), 195-209.

Keri Marshall, N. D. (2004). Therapeutic applications of whey protein. *Alternative medicine review*, 9(2), 136-156.

Kosikowski, F. V. (1979). Whey utilization and whey products. *Journal of Dairy Science*, 62(7), 1149-1160.

Kushwaha, J. P., Srivastava, V. C., & Mall, I. D. (2010). Treatment of dairy wastewater by inorganic coagulants: Parametric and disposal studies. *Water research*, 44(20), 5867-5874.

Lewis, M. J. (1990). *Physical properties of foods and food processing systems*. Elsevier.

Lorient, D., Closs, B., & Courthaudon, J. L. (1991). Connaissances nouvelles sur les propriétés fonctionnelles des protéines du lait et des dérivés. *Le Lait*, 71(2), 141-171.

Maćej, O. D., Jovanović, S. T., & Đurđević-Denin, J. D. (2002). The influence of high temperatures on milk proteins. *Hemijska industrija*, 56(3), 123-132.

Magarò E. (2012). Il siero nell'industria lattiero-casearia. Bergamo. Estrapolato da: <https://agrariacantoni.edu.it/wp-content/uploads/Il-siero-di-latte.pdf>

Marella, C. (2009). Whey Protein fraction using membrane separation technology. *M.sc thesis, South Dakota State University, Brookings*

Mawson, A. J. (1994). Bioconversions for whey utilization and waste abatement. *Bioresource Technology*, 47(3), 195-203.

Mehra, R. K., & Donnelly, W. J. (1993). Fractionation of whey protein components through a large pore size, hydrophilic, cellulosic membrane. *Journal of dairy research*, 60(1), 89-97.

Moeini, H., Nahvi, I., & Tavassoli, M. (2004). Improvement of SCP production and BOD removal of whey with mixed yeast culture. *Electronic journal of biotechnology*, 7(3), 06-07.

Mohsenin, N. N. (1986). *Physical properties of plant and animal materials* (No. 581.1 M64 1986).

Montuoro G. L. (2006). Valutazione analitiche, gestionali e legislative nella filiera del latte alimentare. Dottorato di ricerca in biotecnologie degli alimenti. *Università degli Studi di Bologna, Università degli Studi di Perugia*

Mulder, M. (2012). *Basic principles of membrane technology*. Springer Science & Business Media.

Myint, K. T., Otsuka, M., Okubo, A., Mitsunashi, R., Oguro, A., Maeda, H., ... & Nakajima-Kambe, T. (2020). Isolation and identification of flower yeasts for the development of mixed culture to produce single-cell protein from waste milk. *Bioresource Technology Reports*, 10, 100401.

P. Coyot, D. L. (1996). *Food Proteins and Their Applications*. E. S. D. A. Paraf. *Dijon*: 225-256.

Pintado, M. E., Macedo, A. C., & Malcata, F. X. (2001). Technology, chemistry and microbiology of whey cheeses. *Food Science and Technology International*, 7(2), 105-116.

Pizzichini M., Russo C., Ferrero E., Tuccimei E. (2009). Le tecnologie separative mediante membrana. *ENEA Report RSE*.

Pizzichini M., R. M., F. Ruscio (2001). Il siero di latte: da rifiuto zootecnico a materia prima per alimenti e farmaci. *L'Informatore Agrario* 16: 49-53.

Pizzichini M., Spadoni M., Russo C., Tasselli P.;(2006) Tecnologie di processo per il recupero e la valorizzazione delle componenti del siero di latte. *ENEA report*

Prazeres, A. R., Carvalho, F., & Rivas, J. (2012). Cheese whey management: A review. *Journal of environmental management*, *110*, 48-68.

Pouliot, Y. (2008). Membrane processes in dairy technology—From a simple idea to worldwide panacea. *International Dairy Journal*, *18*(7), 735-740.

Rajeshwari, K. V., Balakrishnan, M., Kansal, A., Lata, K., & Kishore, V. V. N. (2000). State-of-the-art of anaerobic digestion technology for industrial wastewater treatment. *Renewable and sustainable energy reviews*, *4*(2), 135-156.

Rivas, J., Prazeres, A. R., & Carvalho, F. (2011). Aerobic biodegradation of precoagulated cheese whey wastewater. *Journal of agricultural and food chemistry*, *59*(6), 2511-2517.

Rivera, I., Bakonyi, P., Cuautle-Marín, M. A., & Buitrón, G. (2017). Evaluation of various cheese whey treatment scenarios in single-chamber microbial electrolysis cells for improved biohydrogen production. *Chemosphere*, *174*, 253-259.

Rosales-Colunga, L. M., Razo-Flores, E., Ordoñez, L. G., Alatríste-Mondragón, F., & De León-Rodríguez, A. (2010). Hydrogen production by *Escherichia coli* Δ hycA Δ lacI using cheese whey as substrate. *international journal of hydrogen energy*, *35*(2), 491-499.

Ryan, M. P., & Walsh, G. (2016). The biotechnological potential of whey. *Reviews in Environmental Science and Bio/Technology*, *15*(3), 479-498.

Saddoud, A., Hassaïri, I., & Sayadi, S. (2007). Anaerobic membrane reactor with phase separation for the treatment of cheese whey. *Bioresource technology*, *98*(11), 2102-2108.

Sienkiewicz, T., & Riedel, C. L. (1990). Whey and whey utilization: possibilities for utilization in agriculture and foodstuffs production, Verlag Th. Mann, Gelsenkirchen-Buer, Germany.

Siso, M. G. (1996). The biotechnological utilization of cheese whey: a review. *Bioresource technology*, 57(1), 1-11.

Smithers, G. W. (2008). Whey and whey proteins—from ‘gutter-to-gold’. *International Dairy Journal*, 18(7), 695-704.

Steinhauer, T., Marx, M., Bogendörfer, K., & Kulozik, U. (2015). Membrane fouling during ultra-and microfiltration of whey and whey proteins at different environmental conditions: The role of aggregated whey proteins as fouling initiators. *Journal of Membrane Science*, 489, 20-27.

Vrignaud, Y. (1979). Le lactoserum. Matiere premiere noble pour les industries alimentaires humaines et animale. *Revue Laitiere Francaise*, 372:27-39

Walsh, G. (2002). Biochemistry and Biotechnology. *John Willey & Sons*.

Walsh, G. (2014) Proteins: Biochemistry and Biotechnology, 2nd edn. *Wiley & Sons*

Watson, K. S., Peterson, A. E., & Powell, R. D. (1977). Benefits of spreading whey on agricultural land. *Journal (Water Pollution Control Federation)*, 24-34.

Yadav, J. S. S., Bezawada, J., Elharche, S., Yan, S., Tyagi, R. D., & Surampalli, R. Y. (2014). Simultaneous single-cell protein production and COD removal with characterization of residual protein and intermediate metabolites during whey

fermentation by *K. marxianus*. *Bioprocess and biosystems engineering*, 37(6), 1017-1029.

Zhang, J., Farris, P. W., Irvin, J. W., Kushwaha, T., Steenburgh, T. J., & Weitz, B. A. (2010). Crafting integrated multichannel retailing strategies. *Journal of Interactive Marketing*, 24(2), 168-180.

Regolamenti

CLAL (2014) Produzioni di formaggi italiani DOP.
http://www.clal.it/index.php?section=formaggi_dop

Codice CER 020203 (Dlgs 152/06)

DECRETO 13 ottobre 2016, n. 264. Regolamento recante criteri indicativi per agevolare la dimostrazione della sussistenza dei requisiti per la qualifica dei residui di produzione come sottoprodotti e non come rifiuti. *MINISTERO DELL'AMBIENTE E DELLA TUTELA DEL TERRITORIO E DEL MARE*

Direttiva 2008/98/CE del Parlamento europeo e del Consiglio, del 19 novembre 2008, relativa ai rifiuti e che abroga alcune direttive

Regolamento (CE) n. 1069/2009 del Parlamento europeo e del Consiglio, del 21 ottobre 2009, recante norme sanitarie relative ai sottoprodotti di origine animale e ai prodotti derivati non destinati al consumo umano e che abroga il regolamento (CE) n. 1774/2002 (regolamento sui sottoprodotti di origine animale)

REGOLAMENTO (CE) N. 1881/2006 DELLA COMMISSIONE del 19 dicembre 2006 che definisce i tenori massimi di alcuni contaminanti nei prodotti alimentari

Regolamento (CE) n. 273/2008 della Commissione, del 5 marzo 2008 , che stabilisce modalità di applicazione del regolamento (CE) n. 1255/1999 del Consiglio per quanto riguarda i metodi di analisi e la valutazione qualitativa del latte e dei prodotti lattiero-caseari

REGOLAMENTO SPECIALE SIERO DI LATTE Adottato dalla Deputazione Nazionale con delibera n 6 del 18 aprile 2011

UNI EN ISO 707:2008

Sitografia

https://www.clal.it/?section=siero_regioni

https://www.clal.it/?section=quadro_italia

<http://www.compost.it/>

<http://dati.istat.it/Index.aspx?QueryId=25520>

https://ec.europa.eu/commission/presscorner/detail/en/IP_15_6203

<http://www.insor.eu/la-storia/>

<https://unric.org/it/agenda-2030/>