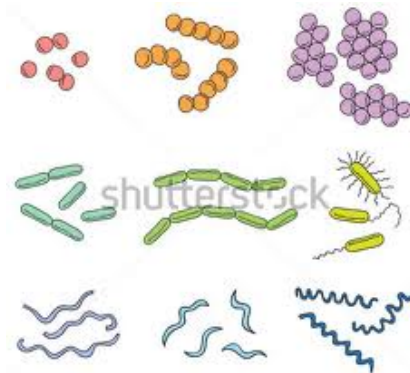


# IL MICROBIOTA ALIMENTARE

**Chiara Devirgiliis**

**CREA-AN Centro di Ricerca Alimenti e Nutrizione**  
**Consiglio per la ricerca in agricoltura e l'analisi dell'economia agraria**  
**EX-INRAN (Istituto Nazionale di Ricerca per gli Alimenti e la Nutrizione)**  
**Roma**

**Numerosi alimenti vengono prodotti sfruttando la capacità di microrganismi di operare trasformazioni biochimiche che conferiscono a ciascun prodotto le caratteristiche organolettiche tipiche**



**.....d'altra parte molti altri microrganismi sono responsabili di deterioramento o contaminazione di vari alimenti.....**





**OLIVO**

Atena/Minerva



**VITE**

Dioniso/Bacco



**GRANO**

Demetra/Cerere



---

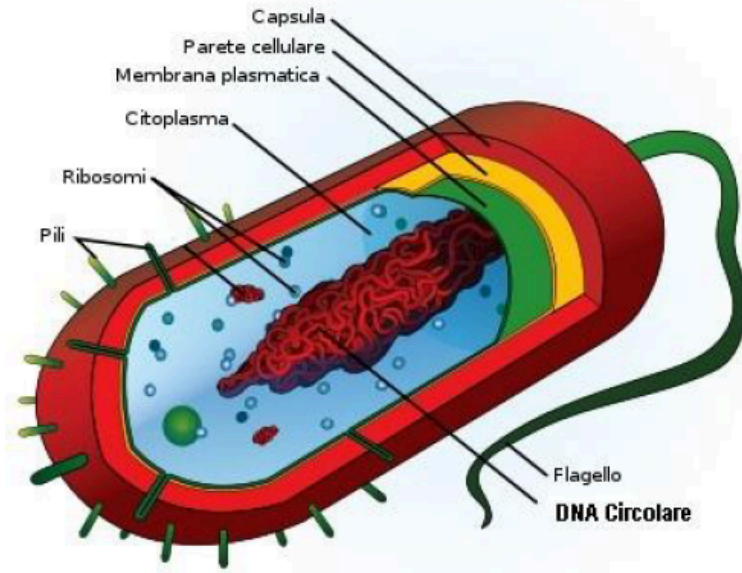
Nelle regioni Mediterranee in particolare, grazie al clima favorevole e alle specie colturali autoctone (cereali, uva e olivo) si sviluppò una gamma ampia e diversificata di prodotti fermentati, che ancor oggi caratterizzano il profilo alimentare Mediterraneo

La loro formazione dalle materie prime era attribuita a capacità divine

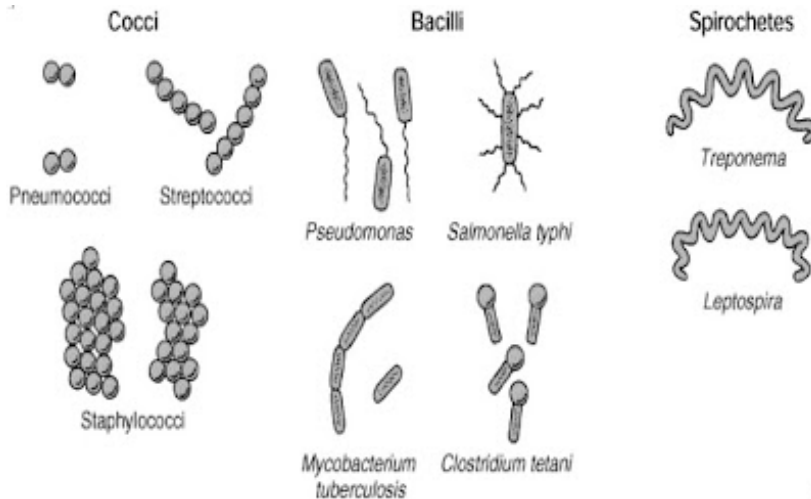


**QUALI SONO I PRINCIPALI  
MICROORGANISMI PRESENTI  
NEGLI ALIMENTI?**

# BATTERI



dimensioni: 0.5-2 micron



- ORGANISMI PROCARIOTI
- MOLTIPLICAZIONE PER SCISSIONE BINARIA
- MOBILI/IMMOBILI
- PARETE CELLULARE COMPLESSA COSTITUITA DA PEPTIDOGLICANO (Gram + e -)
- MORFOLOGIE DIVERSE
- STRAORDINARIA VERSATILITA' METABOLICA
- ADATTAMENTO ALLA SOPRAVVIVENZA IN AMBIENTI OSTILI (spore)
- CRESCITA E SOPRAVVIVENZA INFLUENZATE DA CONDIZIONI AMBIENTALI

# LIEVITI



- ❖ SETTORE ENOLOGICO
- ❖ SETTORE BIRRARIO
- ❖ SETTORE PANARIO

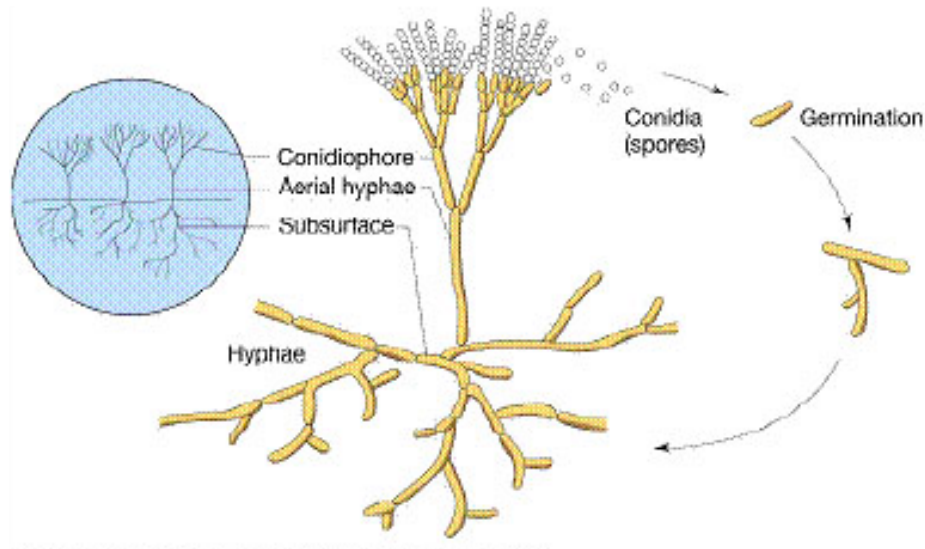


**MICROFLORA SECONDARIA IN MOLTE PRODUZIONI ALIMENTARI:**

- **PRODOTTI LATTIERO-CASEARI**
- **PRODOTTI CARNEI**

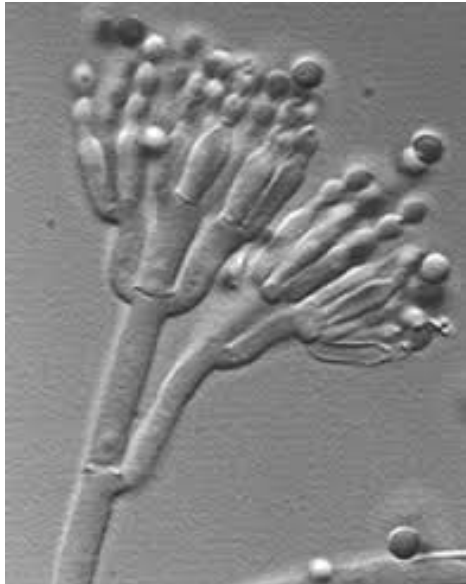
Dal punto di vista metabolico il lievito produce molte sostanze biologicamente attive, quali amminoacidi e polisaccaridi

# MUFFE



Funghi multicellulari  
Struttura vegetativa  
(micelio) costituita da  
lunghi filamenti (ife)

Svolgono azioni sia positive  
(maturazione di formaggi e  
insaccati) che negative  
negli alimenti (alterazione,  
produzione micotossine)



## ATTIVITA' METABOLICHE DI INTERESSE TECNOLOGICO



- ❖ LIPOLISI
- ❖ PROTEOLISI



# I MICRORGANISMI NEGLI ALIMENTI

- ❖ Microrganismi tipici o pro-tecnologici
- ❖ Microrganismi alterativi o anti-tecnologici
- ❖ Microrganismi patogeni
- ❖ Microrganismi probiotici



**QUALITA'**

**SICUREZZA**

Per permettere la crescita di microrganismi l'alimento deve avere caratteristiche favorevoli alla loro presenza e moltiplicazione

Fattori determinanti:

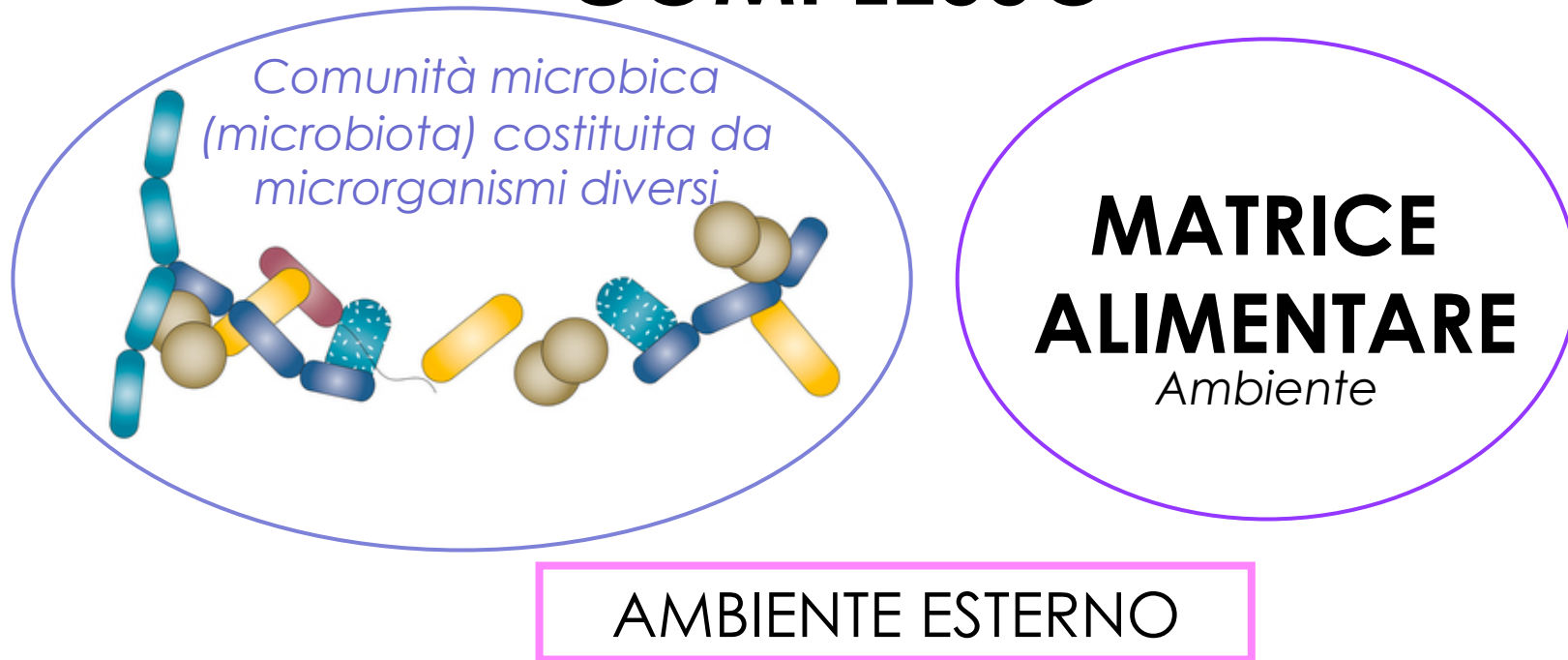
- **disponibilità di nutrienti** per la crescita
- **fattori fisici, chimici e biologici** che si succedono lungo la filiera di produzione

Fonti di contaminazione:

- **NATURALI**: superficie di prodotti vegetali; pelle/pelo, feci per prodotti di origine animale (es. latte)
- **ESTERNE**: aria, suolo, acqua, mangimi, uomo, macchinari

**CONTAMINAZIONE**: non necessariamente accezione negativa!

# ALIMENTO COME ECOSISTEMA COMPLESSO



La colonizzazione di un alimento e il destino dei MO dipendono dalle **condizioni ecologiche** che si realizzano nell'alimento stesso

**FATTORI INTRINSECI**

**FATTORI ESTRINSECI**

**FATTORI IMPLICITI**

# FATTORI CHE INFLUENZANO LA VITA DEI MICRORGANISMI IN UN ALIMENTO

**FATTORI INTRINSECI: ESPRESSIONE DELLE CARATTERISTICHE FISICHE, CHIMICHE E BIOLOGICHE DELL'ALIMENTO**

**FATTORI ESTRINSECI: ESPRESSIONE DELL'AMBIENTE IN CUI SI TROVA L'ALIMENTO**

**FATTORI IMPLICITI: ESPRESSIONE DEI FENOMENI DI INTERAZIONE MICROBICA**

**Tabella 3.2** I fattori che influenzano crescita e sopravvivenza dei microrganismi.

Gruppo di fattori	Definizione	Esempi
Fattori intrinseci	Fattori caratteristici dell'alimento, derivanti dalla sua composizione o struttura	pH/acidità, attività dell'acqua, potenziale redox, disponibilità di nutrienti, presenza di agenti antimicrobici naturali, barriere fisiche
Fattori estrinseci	Fattori ambientali che agiscono durante la trasformazione o conservazione dell'alimento. Possono modificare i fattori intrinseci	temperatura di conservazione, trattamenti fisici (calore, irraggiamento, trattamenti con alte pressioni o correnti elettriche pulsate, essiccamento), modificazione dell'atmosfera di confezionamento, aggiunta di conservanti
Fattori impliciti	Fattori che derivano dall'interazione fra popolazioni microbiche durante la produzione o la conservazione	Interazioni positive (commensalismo, proto cooperazione, simbiosi), interazioni negative (competizione, amensalismo, predazione, parassitismo)

# **RUOLO DEI MO NEGLI ALIMENTI**

**GRADEVOLI: MO PRO-TECNOLOGICI, PROBIOTICI**

**SGRADEVOLI: MO CONTAMINANTI, DETERIORANTI**

**DANNOSI: MO PATOGENI**

**CONCETTI IMPORTANTI:**

**QUALITA' ALIMENTARE**

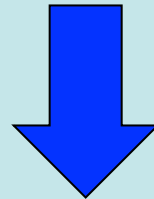
**SICUREZZA ALIMENTARE**

# ATTIVITA' VIRTUOSE

## FERMENTAZIONE

uno dei più antichi processi biotecnologici utilizzato per la conservazione degli alimenti

**Demolizione carboidrati**



**Acidi, alcoli, CO<sub>2</sub>**

**Composti antimicrobici, vitamine**

**Contrasto crescita patogeni**

**Aumento digeribilità**

**Incremento valore nutrizionale alimento**

**Influenza sul microbiota intestinale**

**Tabella 2.2** Ruolo di diversi microrganismi in prodotti lattiero-caseari.

Alimenti	Specie	Attività principali
Formaggi e latti fermentati	<i>Streptococcus thermophilus</i> , <i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>lactis</i> , subsp. <i>cremoris</i> , subsp. <i>lactis</i> bv. <i>diacetylactis</i> , <i>Leuconostoc</i> <i>mesenteroides</i> subsp. <i>cremoris</i>	Abbassamento del pH; produzione di acidi organici (citrato, malato); fermentazione di zuccheri con produzione di acido lattico ed altri prodotti (eterofermentanti, acido acetico, etanolo, acetaldeide, anidride carbonica); produzione di composti aromatici; influenza sulla tessitura; produzione di sostanze inibitrici, batteriocine, che inibiscono patogeni e agenti di deterioramento
Formaggi	<i>Brevibacterium linens</i>	Proteolisi, lipolisi, pigmentazione
Latti fermentati	<i>Bifidobacterium</i> spp.	Attività probiotica
Emmental, Gruyere ecc.	<i>Propionibacterium freudenreichii</i> (ex. <i>shermanii</i> ), <i>P. acidipropionici</i>	Produzione acido propionico (aroma); produzione di anidride carbonica, acido propionico ed acido acetico da zuccheri e acido lattico
Formaggi a maturazione superficiale	<i>Debaryomyces hansenii</i>	Influenza su sapore e aroma
Gorgonzola, Stilton, Blue, Roquefort ecc.	<i>Penicillium roqueforti</i>	Proteolisi, lipolisi, aspetto
Camembert, Brie ecc.	<i>Penicillium camemberti</i>	Proteolisi, aspetto
Bevande fermentate lattiche	<i>Kluyveromyces marxianus</i>	Produzione di etanolo e anidride carbonica

**Tabella 2.3** Ruolo di diversi microrganismi in prodotti derivati da cereali.

Alimenti	Specie	Attività principali
Pane, prodotti da forno	<i>Lactobacillus sanfranciscensis</i> , <i>Lb. brevis</i> , <i>Lb. pontis</i> , <i>Lb. panis</i>	Abbassamento del pH; produzione di acidi organici (citrato, malato); fermentazione di zuccheri con produzione di acido lattico ed altri prodotti; produzione di composti aromatici; influenza sulla tessitura; produzione di sostanze inibitrici, che inibiscono patogeni e agenti di deterioramento
Pane e prodotti lievitati da forno	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> , <i>S. bayanus</i> , <i>Hanseniaspora (Kloeckera)</i> spp.	Produzione di etanolo e di anidride carbonica, produzione di composti aromatici, influenza sulla qualità salutistica
Birra	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> , <i>S. bayanus</i> , <i>Hanseniaspora (Kloeckera)</i> spp.	Produzione di etanolo e di anidride carbonica, produzione di composti aromatici, influenza sulla qualità salutistica
Ang-kak (riso rosso)	<i>Monascus purpureus</i>	Produzione di pigmenti, fermentazione

**Tabella 2.5** Ruolo di diversi microrganismi in prodotti carnel.

Alimenti	Specie	Attività principali
Carni fermentate (salami)	<i>Lactobacillus plantarum</i> , <i>Lb. sakei</i> , <i>Lb. curvatus</i> , <i>Pediococcus pentosaceus</i>	Abbassamento del pH; produzione di acidi organici (citrato, malato); fermentazione di zuccheri con produzione di acido lattico ed altri prodotti; produzione di composti aromatici; influenza sulla tessitura; produzione di sostanze inibitrici che inibiscono patogeni e agenti di deterioramento
Insaccati	<i>Staphylococcus carnosum</i> , <i>S. xylosum</i>	Riduzione dei nitrati (stabilizzazione del colore), aroma, proteolisi, lipolisi
Insaccati	<i>Streptomyces griseus</i>	Proteolisi; aspetto
Salami	<i>Debaryomyces hansenii</i>	Influenza su sapore e aroma
Insaccati	<i>Penicillium camemberti</i>	Protezione della superficie, aroma

**Tabella 2.4** Ruolo di diversi microrganismi in prodotti derivati da frutta e vegetali.

Alimenti	Specie	Attività principali
Vegetali fermentati (crauti, cetrioli, olive)	<i>Lactobacillus plantarum</i> , <i>Leuconostoc mesenteroides</i> , <i>Pediococcus pentosaceus</i> , <i>Enterococcus faecalis</i>	Abbassamento del pH; produzione di acidi organici (citrato, malato); fermentazione degli zuccheri con produzione di acido lattico ed altri prodotti (eterofermentanti, acido acetico, etanolo, acetaldeide, anidride carbonica); produzione di composti aromatici; influenza sulla tessitura; produzione di sostanze inibitrici, batteriocine, che inibiscono patogeni e agenti di deterioramento
Vino	<i>Oenococcus oeni</i> , <i>Lactobacillus plantarum</i>	Produzione di etanolo e di anidride carbonica, produzione di composti aromatici, influenza sulla qualità salutistica
Vino	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> , <i>S. bayanus</i> , <i>Hanseniaspora (Kloeckera)</i> spp.	Produzione di etanolo e di anidride carbonica, produzione di composti aromatici, influenza sulla qualità salutistica
Aceto	<i>Acetobacter aceti</i> , <i>A. pasteurianus</i> , <i>Gluconobacter oxydans</i>	Produzione di acido acetico e sostanze aromatiche
Salsa e pasta di soia	<i>Aspergillus oryzae</i> , <i>A. soyae</i>	Produzione di proteasi e amilasi
Tempeh	<i>Rhizopus oligosporus</i>	Proteolisi, lipolisi, idrolisi di polisaccaridi, influenza l'aspetto



**GENERI/GRUPPI MICROBICI DI  
INTERESSE NELLA MICROBIOLOGIA  
DEGLI ALIMENTI**

# MICROORGANISMI PRO-TECNOLOGICI

- ❖ **Batteri lattici**
- ❖ Batteri propionici
- ❖ Batteri acetici
- ❖ Micro-Stafilococchi
- ❖ Lieviti
- ❖ Muffe

# BATTERI LATTICI (LAB)

Gram-positivi asporigeni, anaerobi ossigeno-tolleranti, in grado di fermentare zuccheri con produzione di acido lattico

Comprendono diversi generi:

*Lactobacillus* (non patogeni)

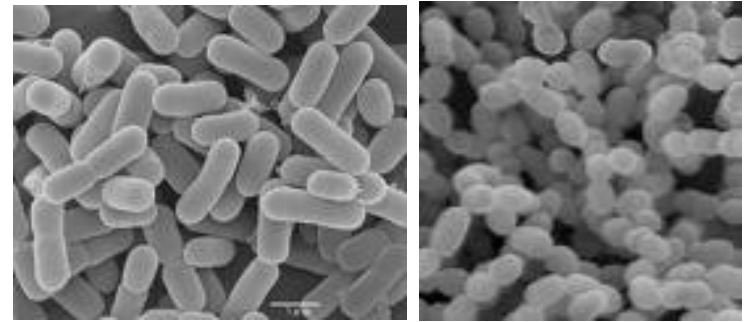
*Streptococcus* (patogeni opportunisti)

*Lactococcus* (non patogeni)

*Enterococcus* (patogeni opportunisti)

*Leuconostoc*

*Pediococcus*



Importanti nelle **fermentazioni alimentari**: abbassamento pH e produzione di batteriocine limita lo sviluppo di specie patogene o alterative

Alcune specie sono normalmente presenti nel tratto gastro-intestinale umano (**microbiota intestinale**)

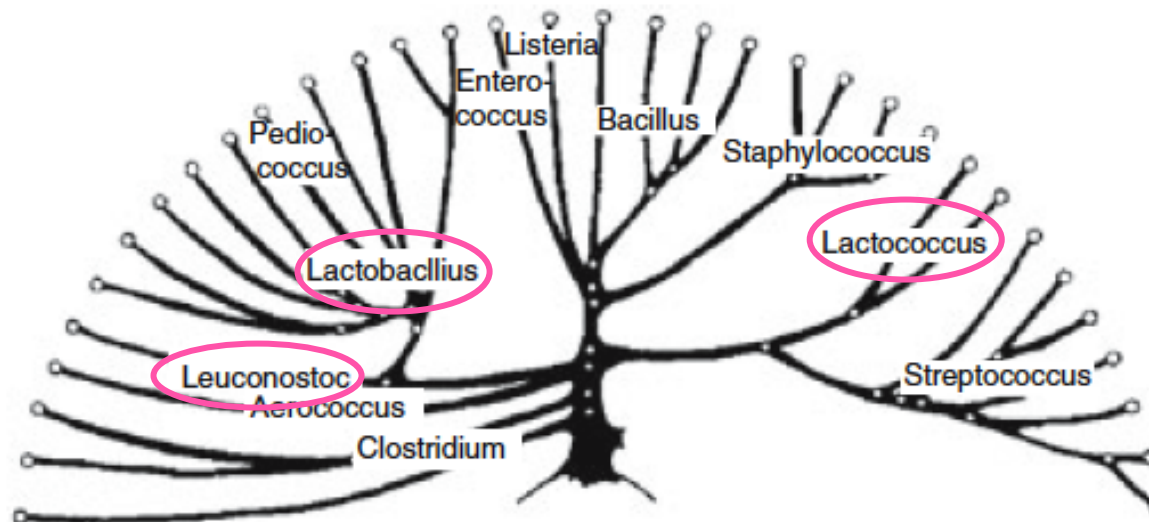
Alcune specie mostrano **caratteristiche probiotiche**

# ....UN PO' DI TASSONOMIA....

I principali generi di LAB (*Aerococcus*, *Carnobacterium*, ***Enterococcus***, ***Lactococcus***, ***Lactobacillus***, ***Leuconostoc***, ***Oenococcus***, ***Pediococcus***, ***Streptococcus***, *Tetragenococcus*, *Weissella* e *Vagococcus*) appartengono all'ordine dei Lactobacillales

Il genere *Bifidobacterium*, pur appartenendo alla classe degli Attinomiceti, viene tradizionalmente considerato membro del gruppo generale dei LAB a causa di caratteristiche fenotipiche simili

**La tassonomia dei batteri lattici è comunque un argomento complesso e in continua evoluzione. Si basa sull'analisi comparativa di sequenza dei geni che codificano l'RNA ribosomiale (rRNA)**

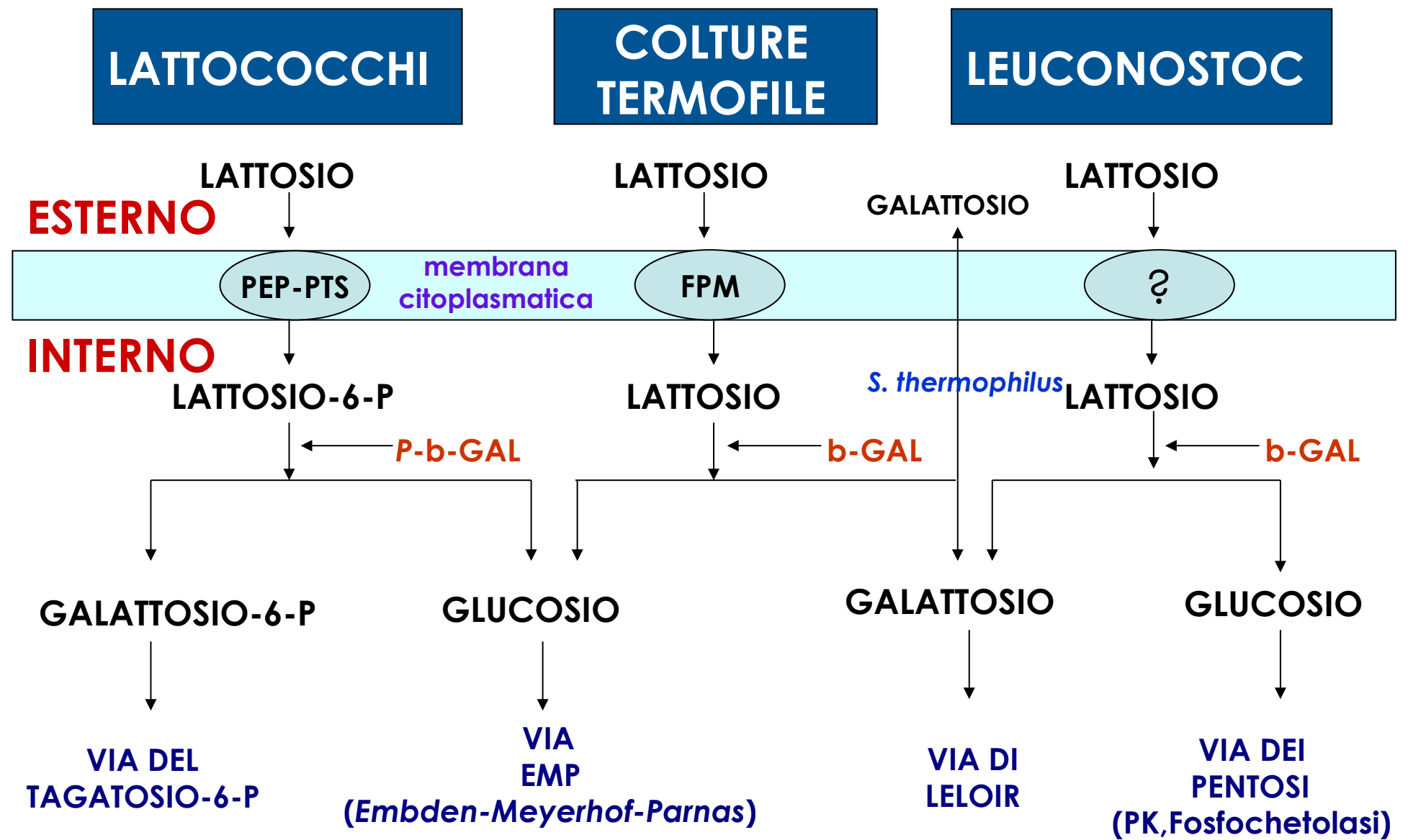


I LAB sono diffusi in numerosi prodotti fermentati:

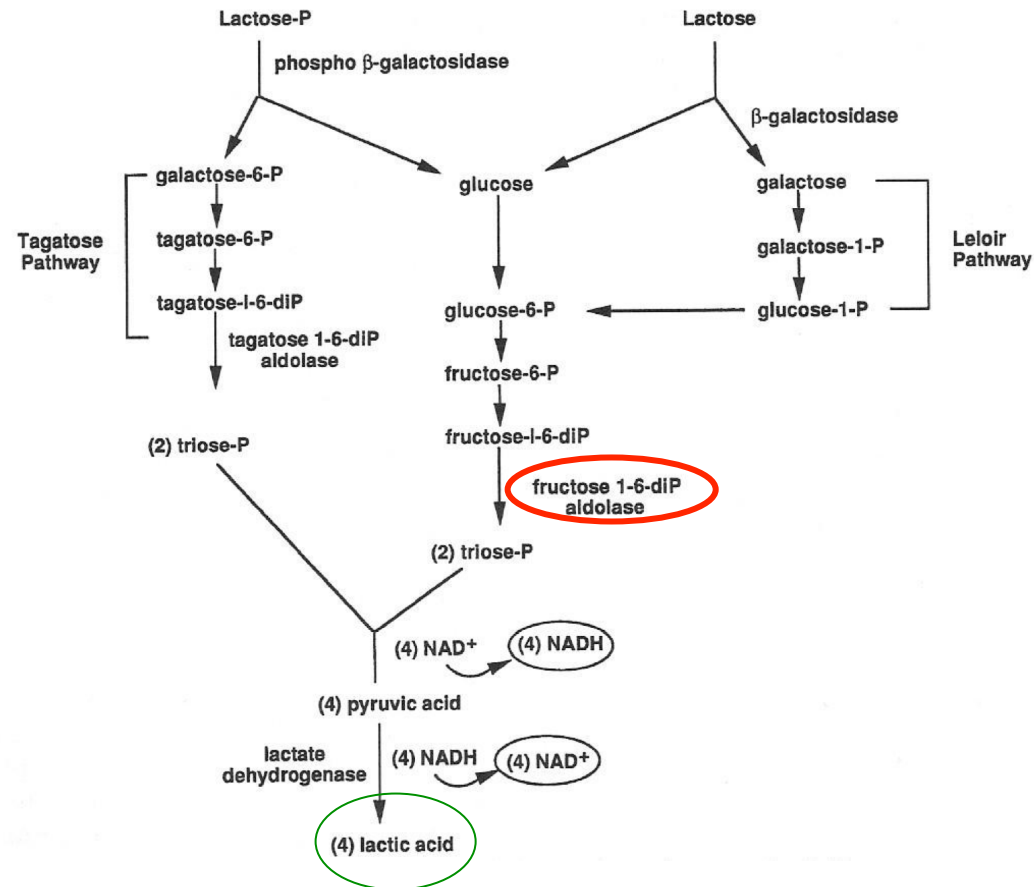
- Caseari (specialmente da latte crudo)
- Carnei (insaccati fermentati)
- Vino e Sidro
- Altri (pesce, vegetali)

**Le funzioni più importanti nelle fermentazioni alimentari sono svolte da geni batterici coinvolti nel metabolismo degli zuccheri, dei lipidi e nei sistemi proteolitici. In particolare la proteolisi gioca un ruolo fondamentale nella maturazione dei prodotti, soprattutto nel determinarne la consistenza e l'aroma.**

# TRASPORTO E METABOLISMO DEL LATTOSIO NEI LAB

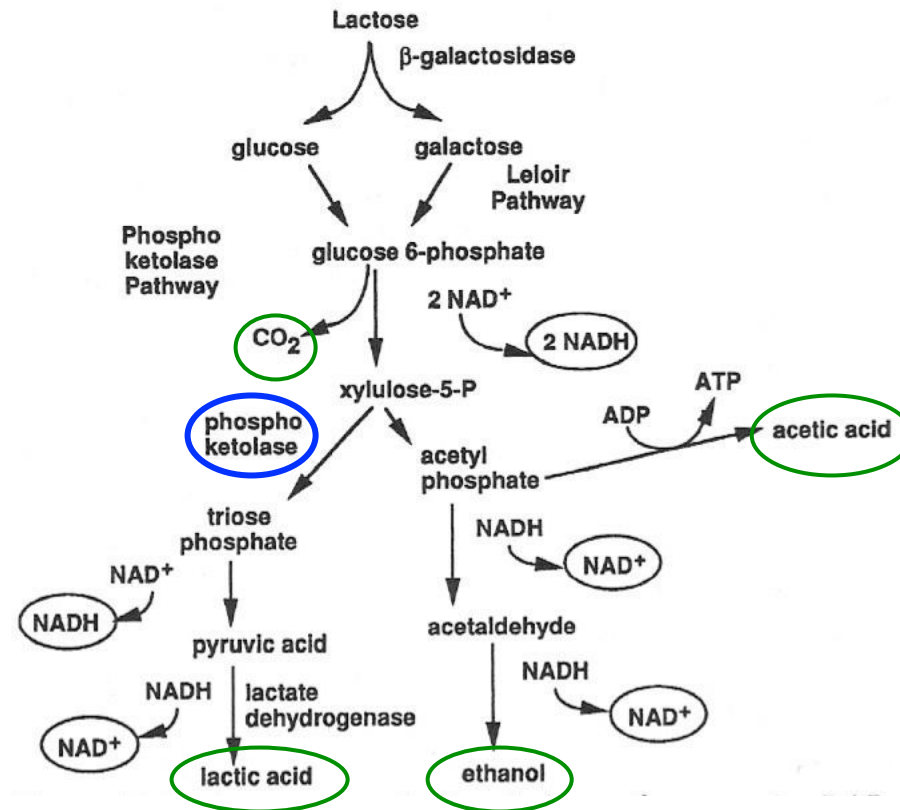


# FERMENTAZIONE OMOLATTICA



**Omofermentanti obbligati:** fermentano solo gli esosi, via EMP, con produzione di acido lattico

# FERMENTAZIONE ETEROLATTICA

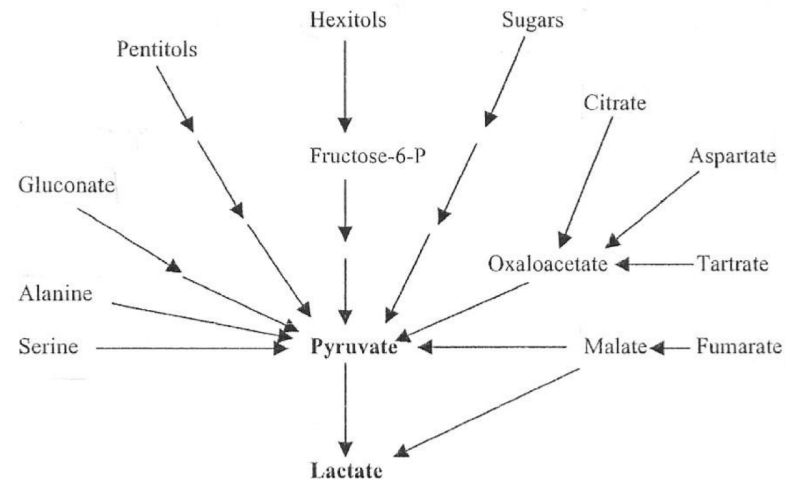


**Eterofermentanti facoltativi:** fermentano esosi (via EMP) e pentosi (via PK) con produzione di ac. lattico, acetico e  $\text{CO}_2$

**Eterofermentanti obbligati:** fermentano esosi e pentosi (via PK) con produzione di ac. lattico, etanolo/ac. acetico e  $\text{CO}_2$  (assente in presenza di pentosi) in quantità equimolari

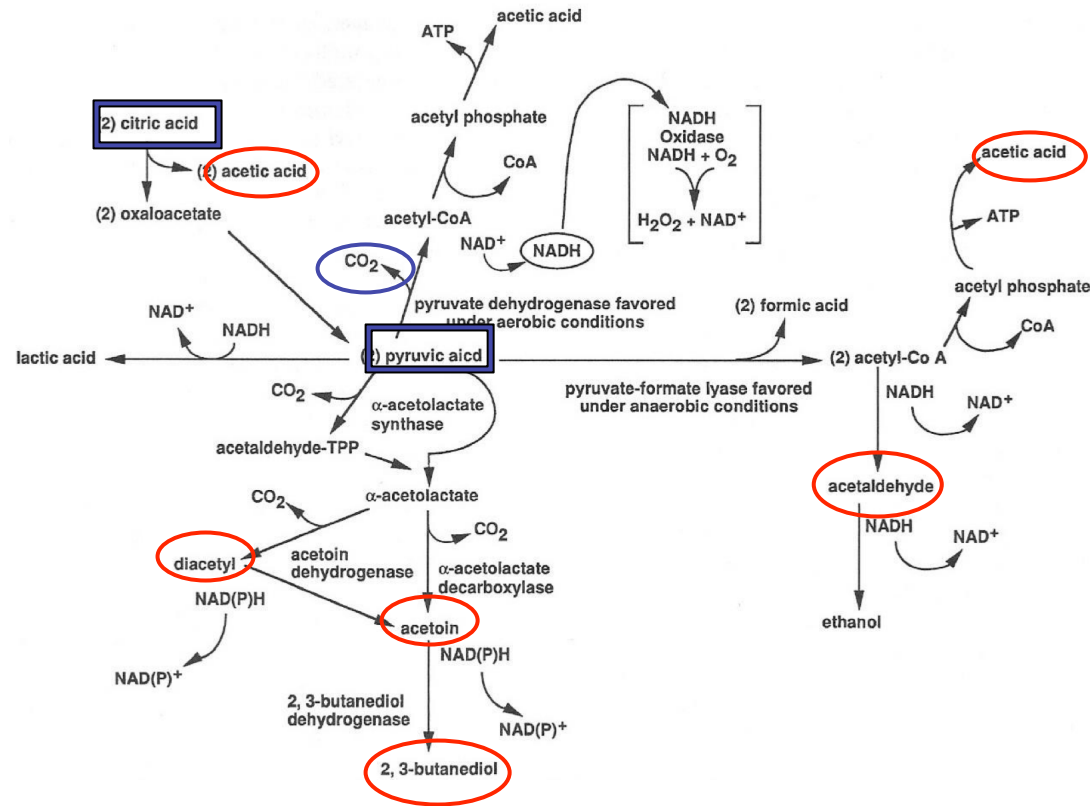


**Alcuni LAB sono comunque in grado di utilizzare altre fonti di carbonio, come polioli, acidi organici e aminoacidi, usando vie metaboliche alternative, sia specie- che ceppo-specifiche**



*Potenziati substrati fermentabili dai LAB per la formazione del piruvato e del lattato. Da Liu, (2003)*

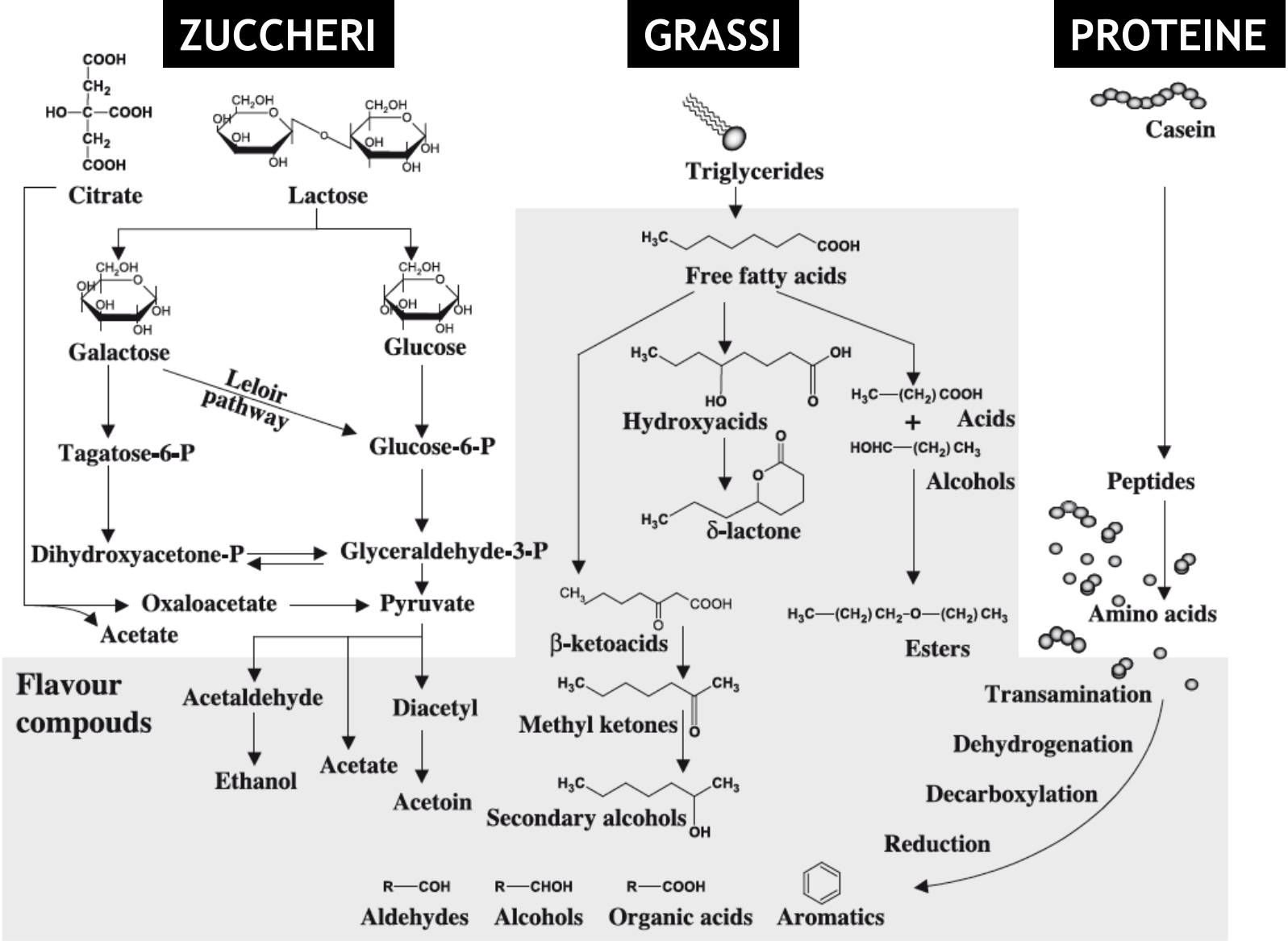
# METABOLISMO DEL PIRUVATO E DEL CITRATO



Importante per lo sviluppo di molecole responsabili di aromi

***Lactococcus lactis-Cit+***  
***Leuconostoc***

# PATHWAYS BIOCHIMICI CHE PORTANO ALLA PRODUZIONE DI COMPOSTI RESPONSABILI DEGLI AROMI

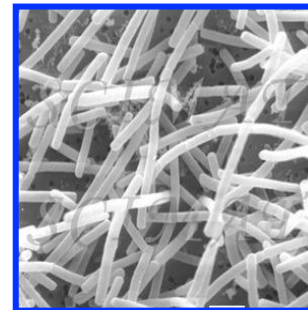


L. Marilley, M.G. Casey / International Journal of Food Microbiology 90 (2004) 139-159

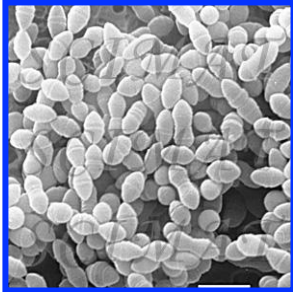
# GENERI DI LAB CON MORFOLOGIA CELLULARE BASTONCELLARE

*Lactobacillus*

*Carnobacterium* (lattobacilli atipici)



# GENERI DI LAB CON MORFOLOGIA CELLULARE COCCICA



*Lactococcus*

*Enterococcus*

*Streptococcus*

*Leuconostoc*

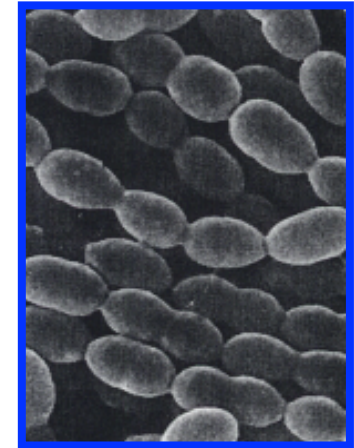
*Weissella*

*Oenococcus*

*Pediococcus*

*Tetragenococcus* (ex *Pediococcus halophilus*)

*Vagococcus* (ex streptococchi mobili)



# Lactobacillus

Anaerobi facoltativi o microaerofili di forma bastoncellare, catalasi negativi.

In relazione al **metabolismo**, le specie di *Lactobacillus* possono essere divise in tre gruppi:

## Omofermentanti obbligati (Gruppo I)

*L. acidophilus*, *L. delbrueckii*, *L. helveticus*, *L. salivarius*

## Eterofermentanti facoltativi (Gruppo II)

*L. casei/paracasei*, *L. curvatus*, *L. rhamnosus*, *L. plantarum*,  
*L. sakei*

## Eterofermentanti obbligati (Gruppo III)

*L. brevis*, *L. buchneri*, *L. fermentum*, *L. reuteri*

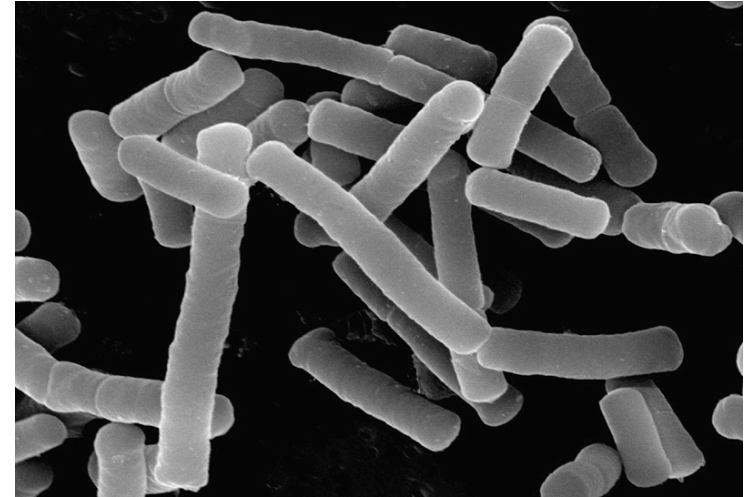
## Caratteristiche

Presentano diverse e complesse esigenze nutrizionali (CHO, aa, peptidi, vitamine, ecc.)

Il principale prodotto della fermentazione è l'acido lattico

Crescono in una grande varietà di habitats, caratterizzati dalla presenza di alti livelli di CHO solubili, prodotti del catabolismo proteico, vitamine e bassa tensione di ossigeno.

Sono acido-tolleranti, e la produzione di elevati livelli di acido lattico abbassa il pH inibendo la crescita di altri batteri. Questa caratteristica li rende particolarmente adattabili e contribuisce alla loro capacità di colonizzare ambienti diversi e a tollerare condizioni spesso sfavorevoli



- ❖ **CAVO ORALE**
- ❖ **TRATTO GASTRO-INTESTINALE**
- ❖ **VAGINA UMANA**
- ❖ **SUOLO, ACQUE E LETAME**

In base alla presenza o all'assenza degli enzimi responsabili del tipo di **omo** o **etero**-fermentazione degli zuccheri, rispettivamente gli enzimi **fruttosio-1,6-difosfato aldolasi** e la **fosfochetolasi**, le specie appartenenti al genere *Lactobacillus* sono divise in 3 gruppi:

**Gruppo I:** lattobacilli **omofermentanti**. Appartengono a questo gruppo specie che fermentano gli esosi quasi esclusivamente ad acido lattico attraverso la via glicolitica di Embden-Meyerhof e che sono incapaci di fermentare i pentosi e il gluconato.

**Gruppo II:** lattobacilli **eterofermentanti facoltativi**. Le specie del gruppo fermentano gli esosi attraverso la via di Embden-Meyerhof o glicolisi e producono quasi esclusivamente acido lattico. Tuttavia in presenza limitata di glucosio, producono lattato, acetato, etanolo o acido formico; sono in grado di fermentare i pentosi a lattato ed acetato per mezzo di una fosfochetolasi inducibile dalla presenza di pentosi.

**Gruppo III:** lattobacilli **eterofermentanti obbligati**. I lattobacilli appartenenti a questo gruppo fermentano gli esosi a lattato, acetato (o etanolo) e CO<sub>2</sub> attraverso la via metabolica del fosfogluconato, mentre i pentosi sono fermentati, sempre mediante l'intervento dell'enzima fosfochetolasi, a lattato e acetato.

# Leuconostoc

Morfologia di cocchi o ovoidale, catalasi negativi, arginina negativi, produzione di gas da glucosio, produzione di isomero D(-)-lattato. Ne esistono 10 specie, tra cui *Leuc. lactis* e *Leuc. mesenteroides*

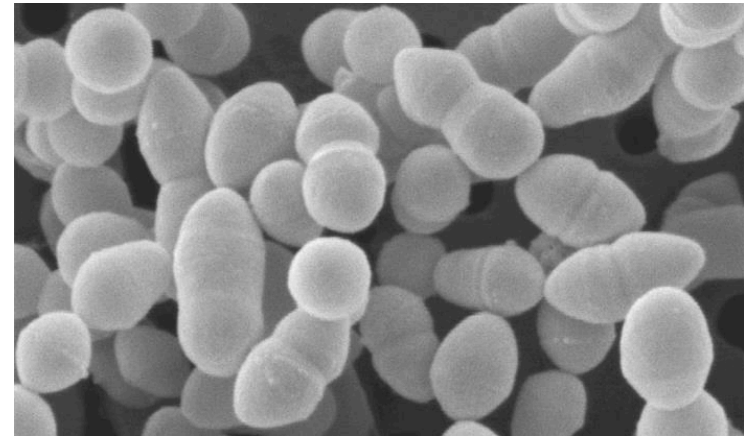
## Caratteristiche

Eterofermentanti obbligati chemioorganotrofi (organismi che utilizzano energia proveniente da sostanze organiche)

Presentano diverse e complesse esigenze nutrizionali (CHO, aa, peptidi, vitamine, ecc.)

Condividono numerosi habitats naturali e artificiali (specialmente matrici alimentari) con altri LAB, in particolare lattobacilli, pediococchi e carnobatteri.

Presenti in diverse matrici alimentari (carnee, vegetali ma soprattutto casearie), in associazione con *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Pediococcus* e *Carnobacterium*. Nei prodotti caseari è responsabile della produzione di diacetile, che conferisce aroma di burro, e acetoino.





# SPECIE DEL GENERE *Leuconostoc*

- *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *mesenteroides*
- *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *cremoris*
- *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *dextranicum*
- *Leuconostoc pseudomesenteroides*
- *Leuconostoc lactis*
- *Leuconostoc citreum*
- *Leuconostoc carnosum*
- *Leuconostoc gelidum*
- *Leuconostoc amelibiosum*
- *Leuconostoc argentinum*
- *Leuconostoc fallax*

# Lactococcus

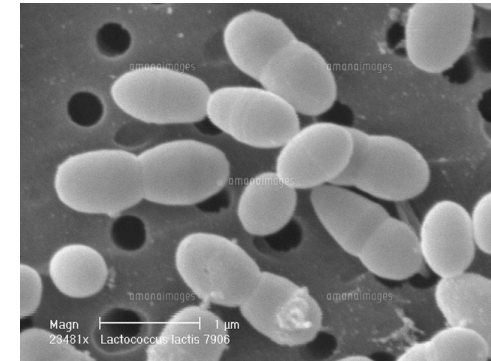
Omofermentanti, catalasi-negativi, morfologia di cocci non-mobili singoli, appaiati, o associati in “catenelle”.

Comprendono le specie *Lc. lactis*, *Lc. garviae*, *Lc. plantarum*, *Lc. piscium* and *Lc. raffinolactis*

I più comuni habitats sono rappresentati da matrici casearie. La specie *Lactococcus lactis* e le sue sottospecie sono ampiamente utilizzate nell'industria lattiero-casearia e sono riconosciute come GRAS (generally recognized as safe).

Impiegati in colture singole o miste per la produzione di diversi tipi di formaggi e latti fermentati

*Lactococcus lactis* biovar “*diacetylactis*” è responsabile della produzione di diacetile, a partire da citrato (presente nel latte in soluzione o nelle micelle di caseina sotto forma di complessi caseina-citrato-calcio-fosfato).



Type of product	Composition of starter culture
1. Cheese type without eye formation (Cheddar, Camembert, Tilsit)	<i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>cremoris</i> , 95 to 98%; <i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>lactis</i> , 2 to 5%
2. Cottage cheese, quarg, fermented milks, cheese types with few or small eyes (e.g., Edam)	<i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>cremoris</i> , 95%; <i>Leuconostoc mesenteroides</i> subsp. <i>cremoris</i> , 5%; or <i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>cremoris</i> , 85 to 90%; <i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>lactis</i> , 3%; <i>Leuconostoc mesenteroides</i> subsp. <i>cremoris</i> , 5%
3. Cultured butter, fermented milk, buttermilk, cheese types with round eyes (e.g., Gouda)	<i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>cremoris</i> , 70 to 75%; <i>Lactococcus lactis</i> subsp. “ <i>diacetylactis</i> ,” 15 to 20%; <i>Leuconostoc mesenteroides</i> subsp. <i>cremoris</i> , 2 to 5%
4. Taette (Scandinavian ropy milk)	<i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>cremoris</i> (ropy strain)
5. Viili (Finnish ropy milk)	<i>Oidium lactis</i> (covers surface); <i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>cremoris</i> (ropy strain)
6. Casein	<i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>cremoris</i>
7. Kefir	Kefir grains containing lactose-fermenting yeasts (e.g., <i>Candida kefir</i> ), <i>Lactobacillus kefir</i> , <i>Lactobacillus kefiranoferans</i> , <i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>lactis</i>

# SPECIE DEL GENERE *Lactococcus*

- ➔ • *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*
- ➔ • *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris*
- *Lactococcus lactis* subsp. *hordniae*
- *Lactococcus garvieae*
- *Lactococcus plantarum*
- *Lactococcus raffinolactis*

# ***Streptococcus thermophilus***

**è l'unico streptococco di  
interesse alimentare**



- ❖ E' un importante microrganismo starter nella tecnologia dello yogurt e di molti formaggi.
- ❖ Cresce a 45°C ma non a 10°C.
- ❖ E' relativamente termoresistente



**I MICRORGANISMI GIOCANO UN RUOLO  
ESSENZIALE NELLE FERMENTAZIONI**

# MICROBIOTA TIPICO DEI PRODOTTI LATTIERO-CASEARI

❖ BATTERI LATTICI

❖ MICROSTAFILOCOCCI

❖ BATTERI CORINEFORMI ELEVATA TOLLERANZA AL SALE  
INTENSA ATTIVITA' LIPOLITICA E PROTEOLITICA  
RESPONSABILI COLORAZIONE CROSTA  
IMPORTANTI NELLA MATURAZIONE

❖ BATTERI PROPIONICI

❖ LIEVITI

OCCHIATURA FORMAGGI SVIZZERI  
CO<sub>2</sub>, AC PROPIONICO, AC ACETICO  
INTENSA ATTIVITA' LIPOLITICA

❖ MUFFE

**Tabella 19.2** Principali batteri lattici di interesse caseario.

Famiglia	Genere	Specie di maggiore interesse caseario		
I. <i>Lactobacillaceae</i>	I. <i>Lactobacillus</i>	<i>L. acidophilus</i>		
		<i>L. brevis</i>		
		<i>L. casei</i>		
		<i>L. coryniformis</i>		
		<i>L. curvatus</i>		
		<i>L. delbrueckii</i>		
		<i>L. fermentum</i>		
		<i>L. helveticus</i>		
		<i>L. parabuchneri</i>		
		<i>L. paracasei</i>		
		<i>L. pentosus</i>		
		<i>L. plantarum</i>		
		<i>L. reuteri</i>		
		<i>L. rhamnosus</i>		
		<i>L. zeae</i>		
			II. <i>Paralactobacillus</i>	
			III. <i>Pediococcus</i>	<i>P. acidilactici</i>
		<i>P. halophilus</i>		
		<i>P. parvulus</i>		
		<i>P. pentosaceus</i>		
II. <i>Aerococcaceae</i>	I. <i>Aerococcus</i>			
	II. <i>Abiotrophia</i>			
	III. <i>Dolosicoccus</i>			
	IV. <i>Eremococcus</i>			
	V. <i>Facklamia</i>			
	VI. <i>Globicatella</i>			
	VII. <i>Ignavigranum</i>			
III. <i>Carnobacterium</i>	I. <i>Carnobacterium</i>			
	II. <i>Agitococcus</i>			
	III. <i>Alkalibacterium</i>			
	IV. <i>Allofustis</i>			
	V. <i>Alloicoccus</i>			
	VI. <i>Desemzia</i>			
	VII. <i>Dolosigranulum</i>			
	VIII. <i>Granulicatella</i>			
	IX. <i>Isobaculum</i>			
	X. <i>Lactosphaera</i>			
	XI. <i>Marinilactibacillus</i>			
	XII. <i>Trichoccus</i>			
IV. <i>Enterococcaceae</i>	I. <i>Enterococcus</i>	<i>E. durans</i>		
		<i>E. faecalis</i>		

**Tabella 19.2** *Continua*

Famiglia	Genere	Specie di maggiore interesse caseario
		<i>E. faecium</i>
		<i>E. hirae</i>
		<i>E. italicus</i>
	II. <i>Atopobacter</i>	
	III. <i>Melissococcus</i>	
	IV. <i>Tetragenococcus</i>	
	V. <i>Vagococcus</i>	
V. <i>Leuconostocaceae</i>	I. <i>Leuconostoc</i>	<i>Leuc.cremoris</i>
		<i>Leuc. dextranicum</i>
		<i>Leuc. mesenteroides</i>
	II. <i>Oenococcus</i>	
	III. <i>Weissella</i>	
VI. <i>Streptococcaceae</i>	I. <i>Streptococcus</i>	<i>S. macedonicus</i>
		<i>S. thermophilus</i>
	II. <i>Lactococcus</i>	<i>Lc. lactis</i>

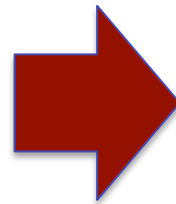


## Microbiota della carne

Le proprietà chimiche e fisiche della carne possono influenzare la colonizzazione e lo sviluppo di un gran numero e varietà di microrganismi

*Acinetobacter, Aeromonas, Alcaligenes, Alteromonas, Arthrobacter, Bacillus, Bacteroides, Brochothrix thermosphacta, Carnobacterium, Chromobacterium, Citrobacter, Clostridium, Corynebacterium, Enterobacter, Enterococcus, Escherichia, Flavobacterium, Hafnia, Kurthia, Lactobacillus, Leuconostoc, Listeria, Micrococcus, Moraxella, Pediococcus, Proteus, Pseudomonas, Psychrobacter, Serratia, Shewanella, Streptococcus, Streptomyces, Staphylococcus, Candida, Debaryomyces, Rhodotorula*

**Alcuni fattori  
possono influenzare  
la loro presenza**



- **Allevamento**
- **Macellazione**
- **Conservazione delle carcasse**

# I microrganismi della carne

## Gram –

- *Pseudomonas*
- *Enterobacteriaceae*

## Gram +

- *Micrococcus*
- *Kocuria*
- *Staphylococcus*
- *Sporigeni*
- *Brochotrix*  
*thermospacta*

## Lieviti

- *Candida*
- *Debaryomyces*
- *Pichia*
- *Rhodotorula*

## Muffe

- *Penicillium*
- *Aspergillus*

## Specie coinvolte nell'attività fermentativa

### *Lactobacillus sakei*, *L. curvatus*, *L. plantarum*

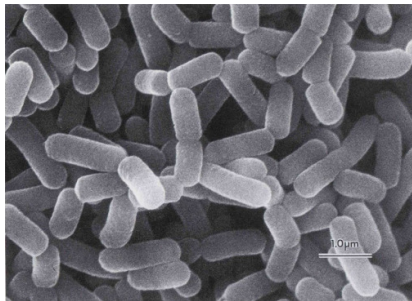
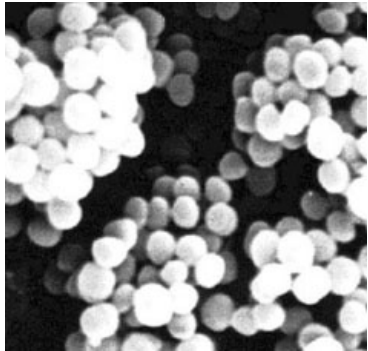
Eterofermentanti facoltativi produttori di acido lattico D/L. *L. sakei* e *L. curvatus* crescono anche a 10-15 °C; *L. plantarum* cresce a 25°C

### *Pediococcus acidilactici*, *P. pentosaceus*

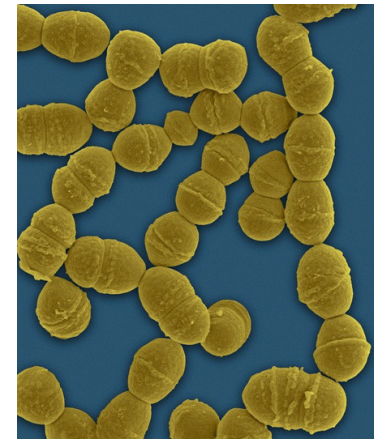
Ottimo potere acidificante, crescono preferenzialmente a temperature comprese tra i 25°C e i 30°C

In molte preparazioni possono ricorrere specie eterofermentanti obbligate quali *Leuconostoc mesenteroides*, specie di *Weissella* e *Lactobacillus brevis*, che a basse concentrazioni possono produrre aromi particolari ma alte concentrazioni sono responsabili di off-flavours

# Specie batteriche isolate dagli insaccati carnei fermentati

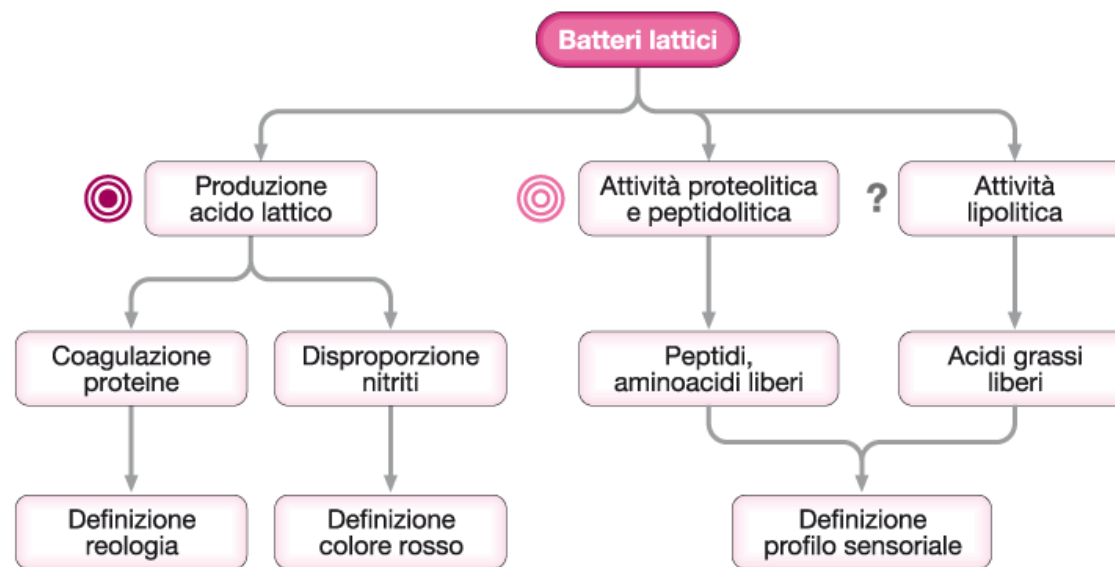


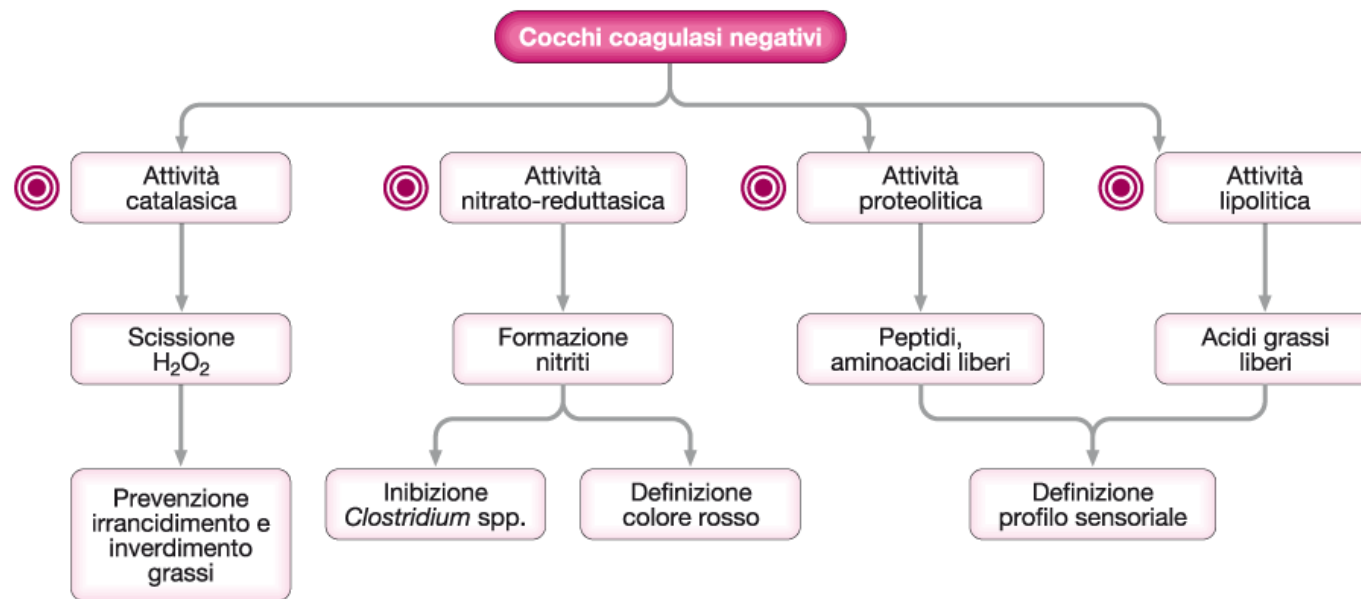
- *Staphylococcus xylosus*
- *Staphylococcus carnosus*
- *Staphylococcus saprophyticus*
- *Staphylococcus warneri*
- *Micrococcus varians*
- *Lactobacillus plantarum*
- *Lactobacillus curvatus*
- *Lactobacillus sakei*
- *Pediococcus acidilactici*
- *Pediococcus pentosaceus*
- *Leuconostoc mesenteroides*



**Tabella 20.3** Principali eventi biochimici espressi dai microrganismi virtuosi durante la maturazione degli insaccati fermentati.

Eventi biochimici	Prodotti metabolici	Effetto tecnologico	Microrganismi responsabili
Metabolismo degli zuccheri	Acido lattico	Insolubilizzazione e coagulazione delle proteine	<i>Lactobacillus</i> spp.
Riduzione dei nitrati	Nitriti	Inibizione batteri indesiderati ( <i>Clostridium</i> spp., <i>B. thermoaphacta</i> ), fissazione colore rosso	
Idrolisi delle proteine sarcoplastiche	Peptidi e aminoacidi liberi	Definizione <i>flavour</i> caratteristico	<i>Lactobacillus</i> spp., <i>Kocuria</i> spp., <i>Staphilococcus</i> spp., <i>Debaryomyces hansenii</i> , <i>Penicillium</i> spp.
Idrolisi dei lipidi	Acidi grassi liberi	Definizione <i>flavour</i> caratteristico	<i>Kocuria</i> spp., <i>Staphilococcus</i> spp., <i>Debaryomyces hansenii</i> , <i>Penicillium</i> spp.
Metabolismo acido lattico		Disacidificazione del prodotto	<i>Penicillium</i> spp.





# FATTORI CHE INFLUENZANO LA COMPOSIZIONE MICROBICA DEI FORMAGGI

➤ LATTE

➤ TECNOLOGIA

➤ STAGIONATURA



## SUCCESSIONE MICROBICA DURANTE LA FERMENTAZIONE CASEARIA

**Colture starter (SLAB)** – rapida produzione di acido lattico e conseguente diminuzione del pH della matrice alimentare. Comprendono *Lactococcus lactis*, *Leuconostoc spp.*, come specie mesofile (optimum di crescita tra 25°C e 30°C) e *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus delbrueckii*, *Lactobacillus helveticus*, come specie termofile (optimum di crescita tra 37°C e 42°C)

**Colture non-starter (NSLAB)** – svolgono un importante ruolo nella maturazione del prodotto, conferiscono particolari aromi e consistenza. Gruppo eterogeneo, rappresentato da *Lactobacillus* (*L. farciminis*, *L. casei*, *L. paracasei* e *L. plantarum*), *Enterococcus*, *Lactococcus* e *Streptococcus*

# PRODOTTI FERMENTATI

I prodotti fermentati tradizionali contengono una comunità microbica complessa di origine ambientale, potenzialmente capace di colonizzare in modo transiente il tratto gastro-intestinale



**TIPICI (DOP e IGP)**



- microflora starter naturale
- pre-esistente nelle materie prime non pastorizzate




**INDUSTRIALI**



- colture starter selezionate (commerciali)
- aggiunte a materie prime pastorizzate

# TIPOLOGIE DI STARTER

## ❖ STARTER NATURALI

- ❖ **Latto-innesti**  indipendente dal tipo di tecnologia impiegata
- ❖ **Siero-innesti**

## ❖ STARTER SELEZIONATI

- ❖ **Liquidi**
- ❖ **In polvere**
- ❖ **Congelati**

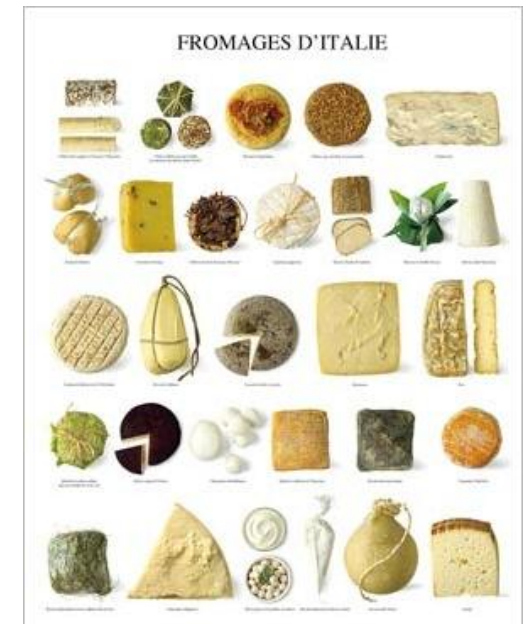
**PER LATTO-INNESTO E SIERO-  
INNESTO SI INTENDE IL LATTE O IL  
SIERO PROVENIENTI DALLA  
LAVORAZIONE PRECEDENTE**

# Certificazione DOP (Designazione di Origine Protetta)

Gli alimenti fermentati tipici dei Paesi Mediterranei spesso utilizzano specie batteriche ambientali pre-esistenti nelle materie prime (latte, carne, vegetali)

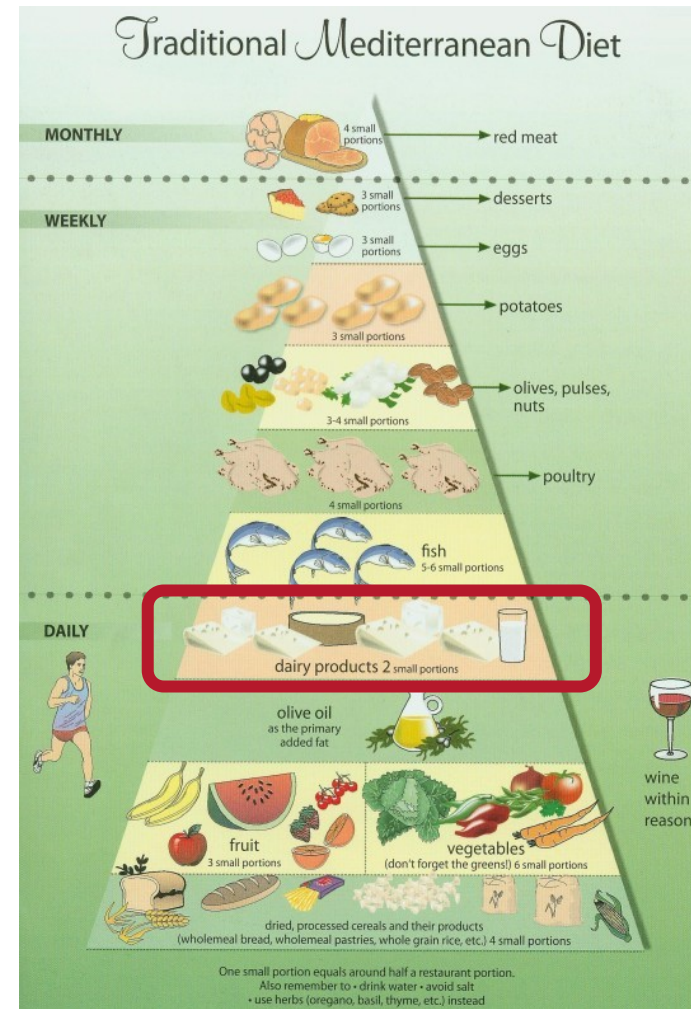
La composizione di questa microflora ambientale riflette le specie più rappresentate in distretti geografici ristretti

I prodotti finali della fermentazione sono quindi caratterizzati da aromi e consistenze specifiche, ottenibili esclusivamente in aree geografiche definite (IGP: Indicazione Geografica Protetta)



# I prodotti fermentati possono rappresentare un veicolo importante di batteri probiotici per l'organismo umano

Molti prodotti lattiero-caseari freschi come yogurt, latti fermentati e latticini, sono caratteristici della dieta mediterranea e contengono un titolo elevato di batteri lattici.



# ORIGINE DELLE COLTURE STARTER NATURALI NEI PRODOTTI CASEARI FERMENTATI TRADIZIONALI



Microflora  
gastrointestinale degli  
animali



Ambiente/silaggio



“Contaminazione” del  
latte

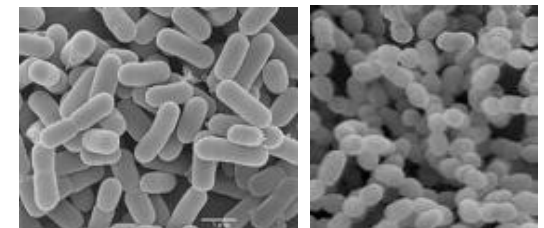


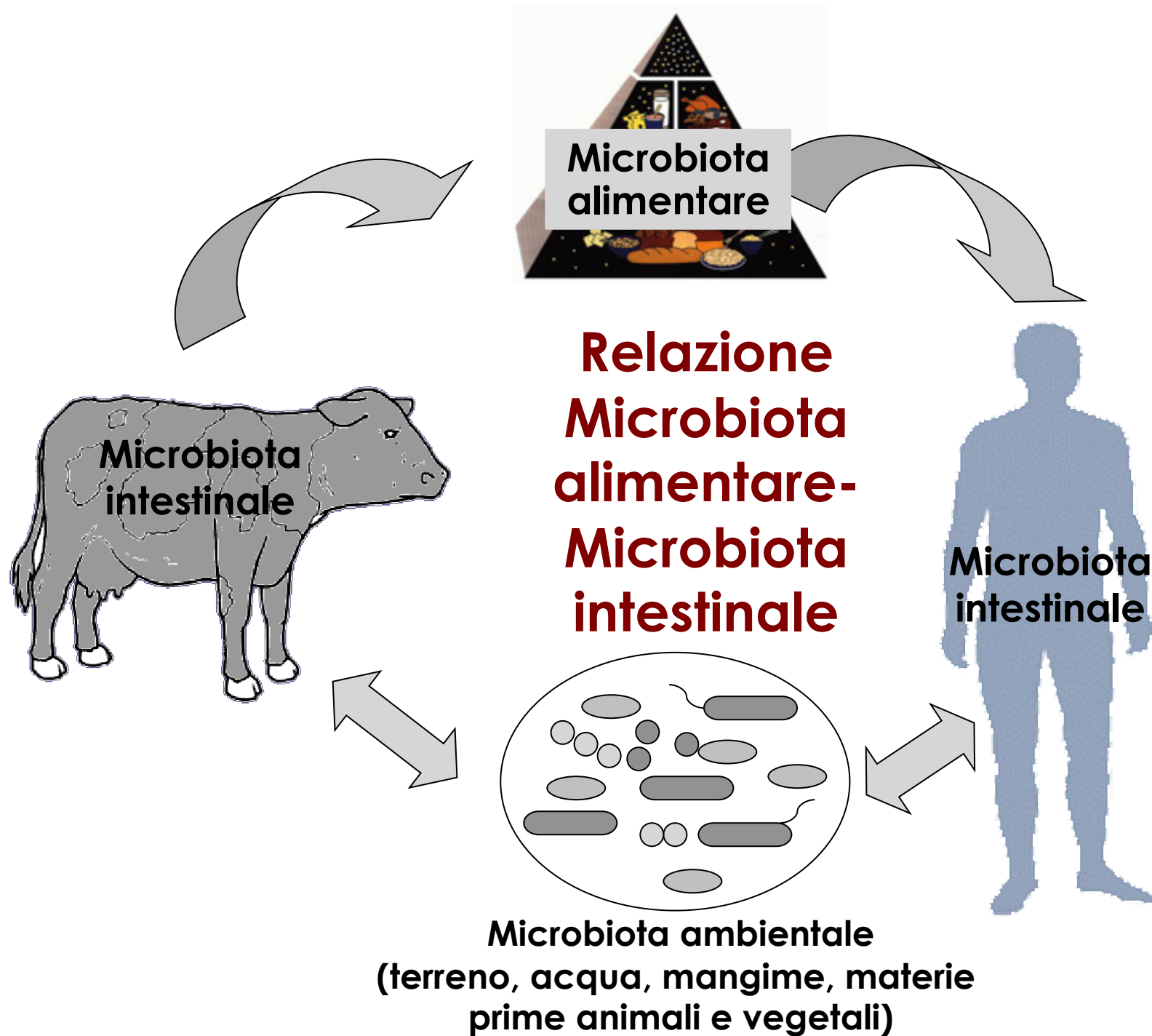
Colture starter (LAB)



Fermentazione  
lattica

*Lactobacillus*  
*Lactococcus* *Leuconostoc* *Enterococcus*  
*Pediococcus* *Streptococcus*







RESEARCH

Open Access

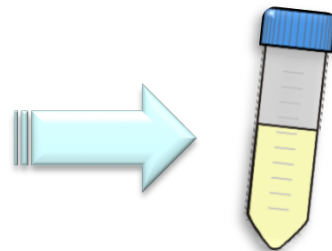


# Impact of supplementation with a food-derived microbial community on obesity-associated inflammation and gut microbiota composition

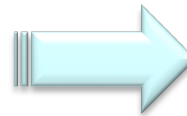
Marianna Roselli, Chiara Devirgiliis<sup>\*</sup>, Paola Zinno, Barbara Guantario, Alberto Finamore, Rita Rami and Giuditta Perozzi



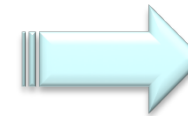
**Homogenization of MBC samples in Na-Citrate**



**Homogenates inoculated in MRS and anaerobically grown at 37°C to OD<sub>600</sub> = 3**



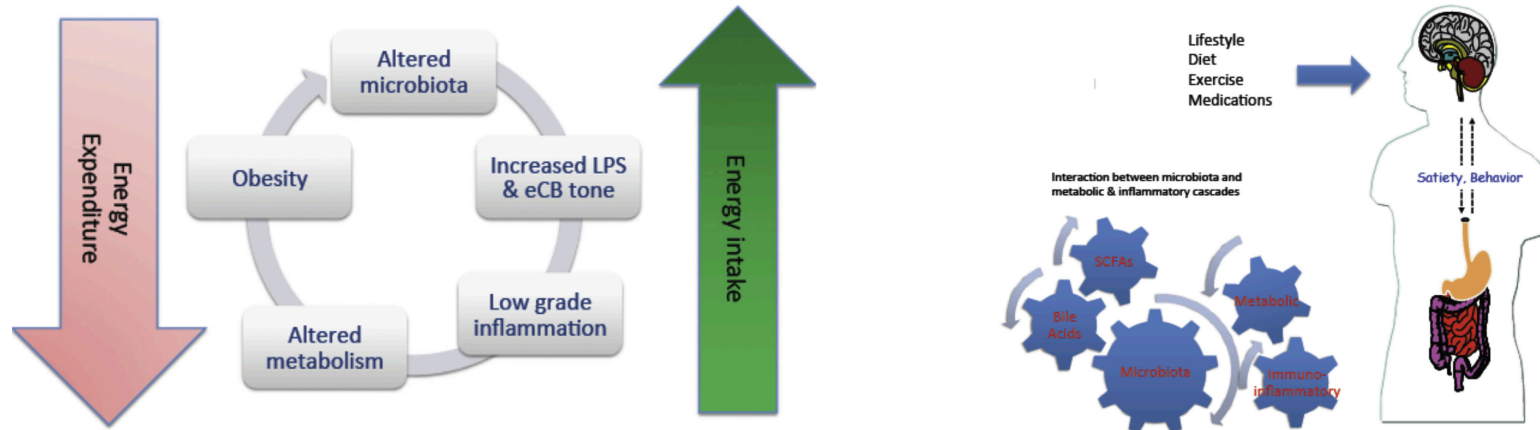
**Glycerol stocks of daily doses (1x10<sup>9</sup> CFU)**



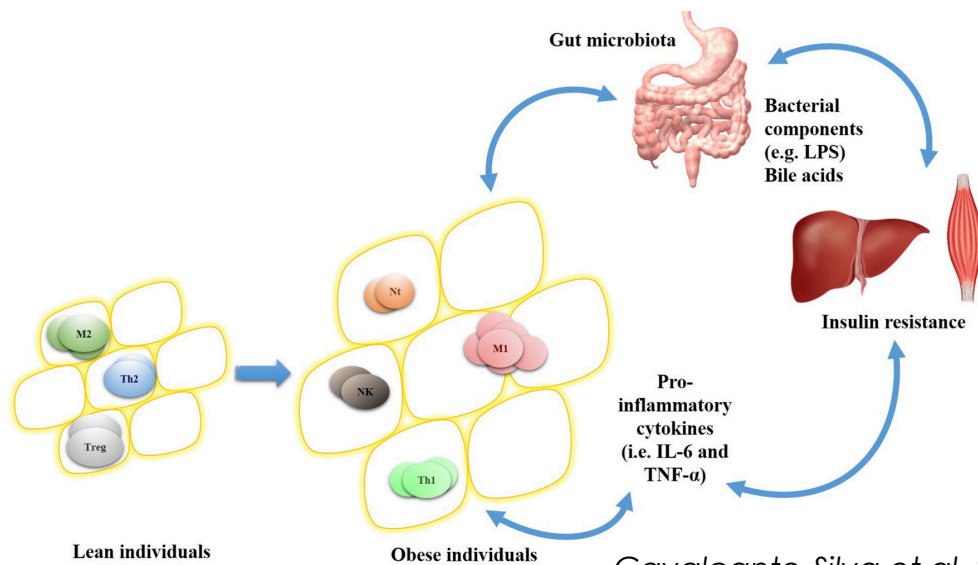
**Daily administration to mice**

# Obesity

Mechanisms involved in the pathogenesis of obesity include **altered gut microbiota**, increased gut permeability and LPS levels leading to **low grade inflammation**, in addition to chronic energy excess



Moran et al. 2014



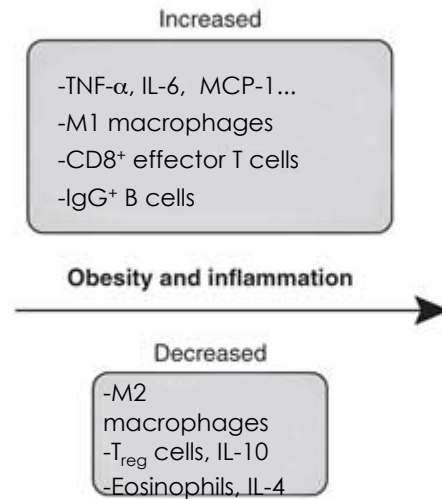
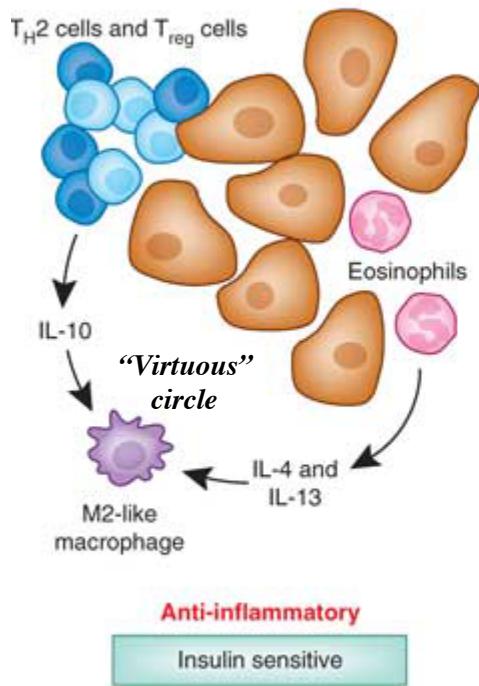
Cavalcante-Silva et al, 2015

In lean individuals, adipocytes are infiltrated by anti-inflammatory cells and Th2. On the other hand, obese individuals have hypertrophied adipocytes associated with pro-inflammatory cells, NK and Th1 lymphocytes, which altogether induce pro-inflammatory mediators release. This inflammatory cell infiltration is influenced by the cytokines produced locally and also by host-gut microbiota interactions, which in turn are directly associated to obesity and its complications.

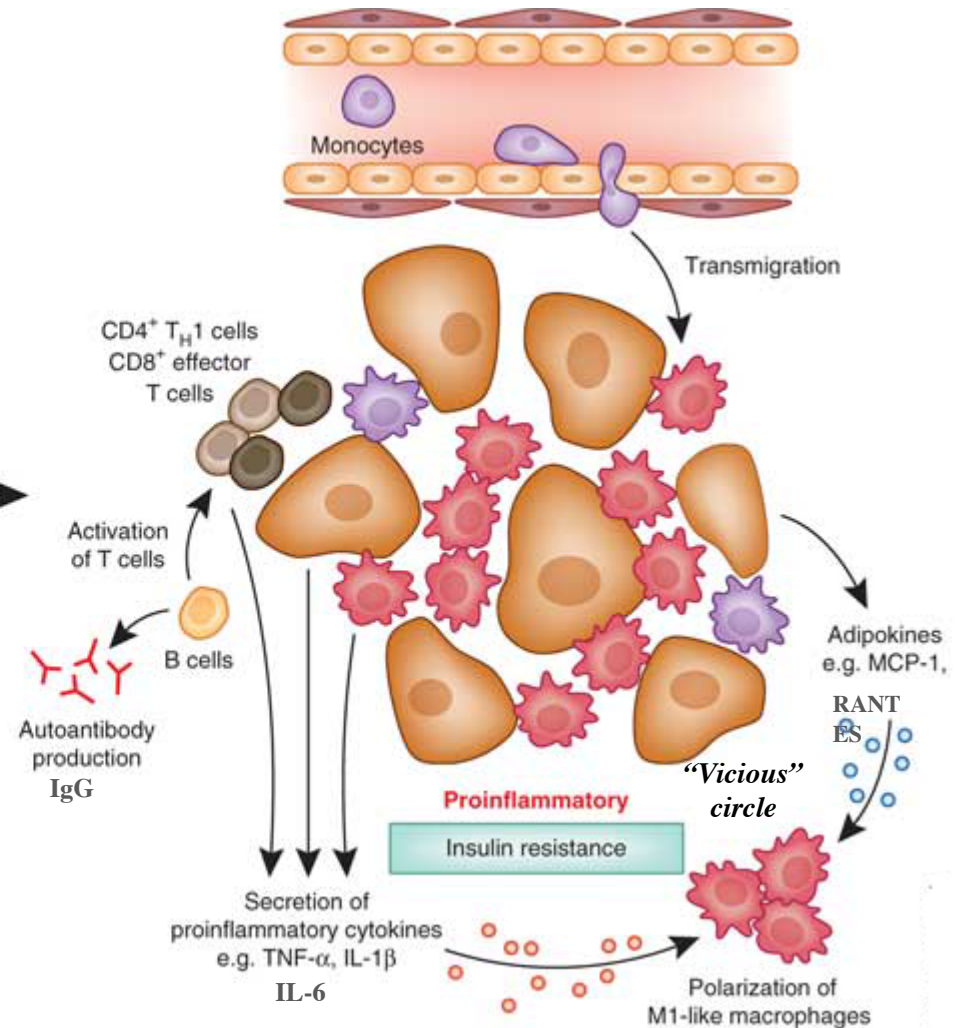


# OBESITY AND INFLAMMATION

## “Lean” white adipose tissue (WAT)



## “Obese” WAT



# EXPERIMENTAL DESIGN

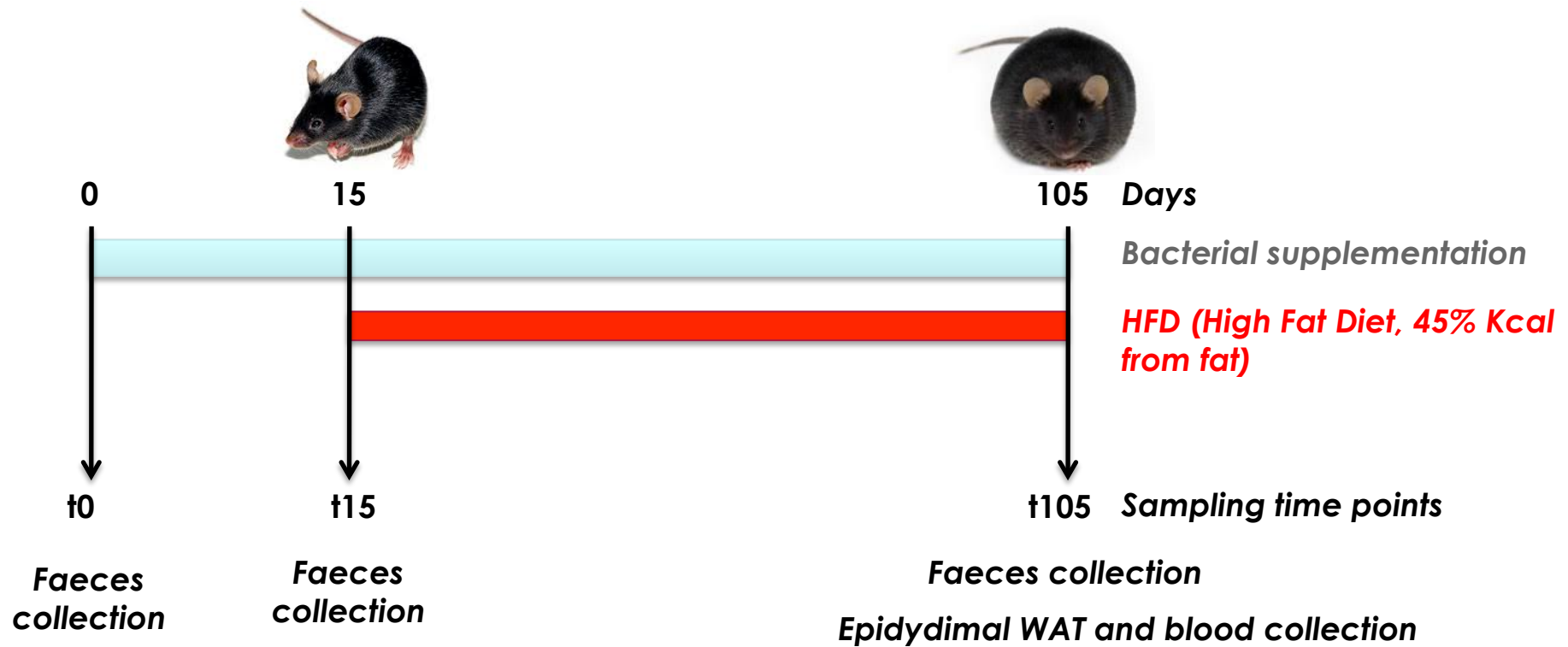
 **MBC microbiota ( $1 \times 10^9$  CFU/day)**

 **LGG ( $1 \times 10^9$  CFU/day)**

 **PBS (CTRL)**



**C57BL/6J mice  
6 weeks-old**



## CONCLUSIONS

- Stronger effect of a **mixed microbial consortium** vs single-strain probiotic supplementation in ameliorating HFD-induced inflammation in the WAT of obese mice, highlighting the importance of considering complex foodborne microbial consortia naturally occurring in fermented products as potential probiotic vectors
- The observed immunomodulatory activity exerted by the MBC-derived microbiota suggests **synergistic interactions of microbial strains of environmental origin** within the foodborne consortium.

More studies are needed to further investigate the role of dietary microbes with yet uncharacterised probiotic effect, aimed also at identifying novel, under-represented strains which could be unique to the foodborne microbiota.