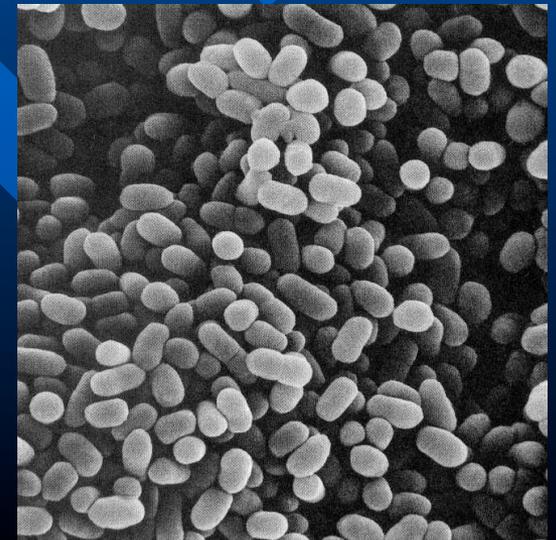


I microrganismi di interesse lattiero-caseario



Fattori intrinseci, estrinseci ed impliciti nell'ecologia microbica dei prodotti lattiero-caseari

- **fattori intrinseci:** relativi alla composizione e struttura degli alimenti (a_w , pH, Eh, disponibilità di nutrienti, sistemi antimicrobici, barriere naturali)
- **fattori estrinseci:** relativi alla tecnologia di produzione e la composizione degli alimenti (fonti di contaminazione, temperatura, atmosfera di conservazione, operazioni unitarie che influenzano i fattori intrinseci, trattamenti termici)
- **fattori impliciti:** relativi all'interazione dei microrganismi (competizione, amensalismo, protooperazione, parassitismo (fagi))

Latte

- $a_w > 0,995$
- pH 6,6-6,8
- abbondanza nutrienti: zuccheri (4,6-5%), fonti azotate (proteine), vitamine
- (presenza di sistemi antimicrobici)
- temperatura fra 18 e 39°C
- competizione, proto cooperazione, amensalismo, parassitismo

Cagliata

- a_w fra 0,92 e 0,99
- pH 4,6-5,8
- S/M 0-6%
- abbondanza nutrienti: zuccheri (1%), fonti azotate (proteine), vitamine
- temperatura fra 18 e 54°C
- competizione, protooperazione, amensalismo, parassitismo

Formaggi

- a_w fra 0,80 e 0,98
- pH 4,6-7 (sulla superficie)
- E_h -250 mV (differenze fra superficie ed interno)
- S/M 2-8%
- assenza di zuccheri, presenza di concentrazioni relativamente elevate di acidi organici (lattato, propionato)
- temperatura fra 4 e 20°C
- effetti di atmosfera e confezionamento
- competizione, protooperazione, amensalismo, parassitismo

I microrganismi e i prodotti lattiero-caseari

Utili

Agenti di fermentazioni

- Batteri lattici
- Batteri propionici
- Corineformi
- Stafilococchi coag.-
- Lieviti
- Muffe

Dannosi

Agenti di deterioramento

- Batteri lattici
- Batteri propionici
- Sporigeni
- Psicrotrofici
- Enterobatteri
- Muffe e lieviti

Patogeni

- *Staphylococcus aureus*
- Patogeni enterici
- *Listeria monocytogenes*

I batteri lattici (LAB)

Gruppo estremamente eterogeneo dal punto di vista:

- **tassonomico**
- **ecologico**: sono ubiquitari, anche se le diverse specie occupano nicchie particolari. Possono essere isolati da: materiale vegetale, latte e derivati, carni, tratto gastrointestinale di animali, cavità orofaringea di animali, acque di fogna.

I LAB sono accomunati dalle seguenti caratteristiche:

- × sono tutti **Gram positivi**,
- × sono tutti **anaerobi ossigeno-tolleranti**
- × hanno **metabolismo fermentativo**: producono acido lattico ed altri metaboliti dalla fermentazione di carboidrati
- × hanno **esigenze nutrizionali molto alte**
- × **non sono in grado di sintetizzare il gruppo eme** e quindi sono **catalasi ed ossidasi negativi**
- × **non producono endospore o sono generalmente immobili**

LAB associati agli alimenti

12 generi diversi:

Carnobacterium

Enterococcus

Lactobacillus

Leuconostoc

Oenococcus

Pediococcus

Streptococcus

Tetragenococcus

Vagococcus

Weissella

Aerococcus

La classificazione tradizionale, sviluppata all'inizio del secolo XX è stata largamente stravolta dai metodi di identificazione genotipici.

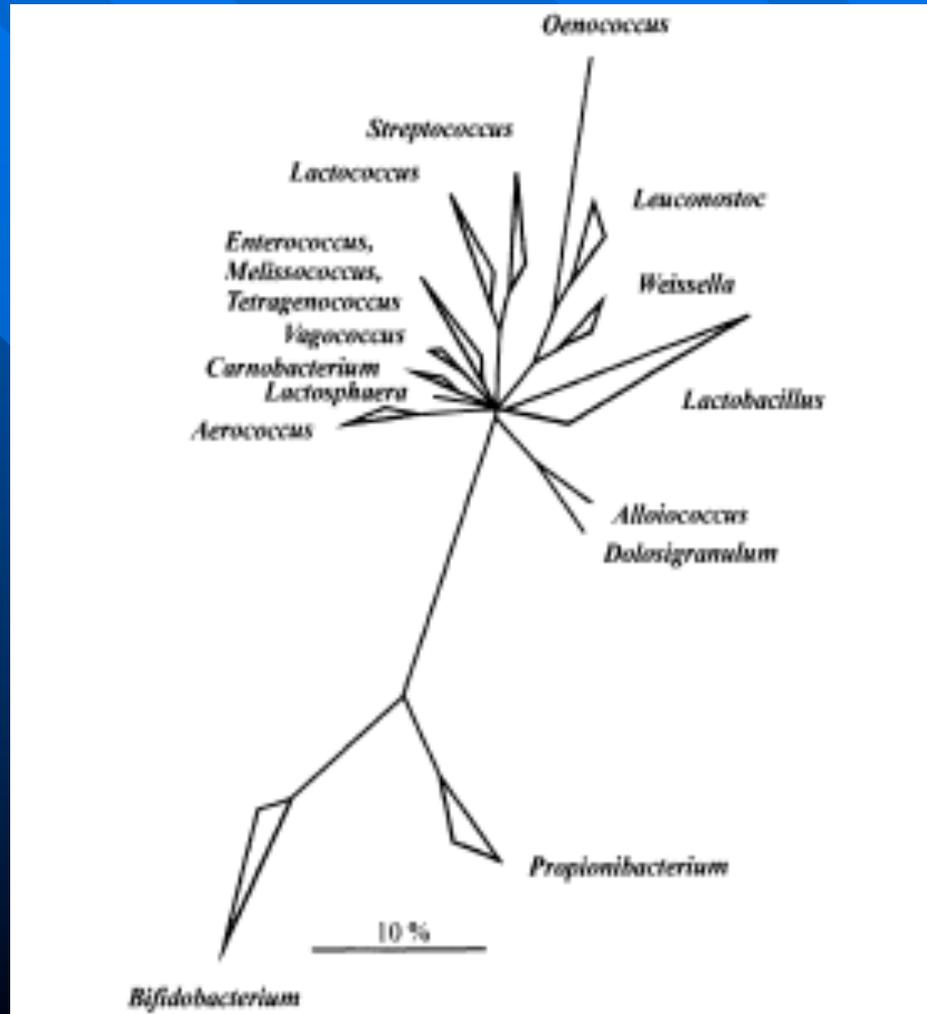
Table 1
Orla-Jensen (1919) key to differentiation of the lactic acid bacteria and current taxonomic classification

Genus ^a	Shape	Catalase	Nitrite reduction	Fermentation	Current genera
Betabacterium	Rod	--	—	Hetero-	<i>Lactobacillus</i> <i>Weissella</i>
Thermobacterium	Rod	—	—	Homo-	<i>Lactobacillus</i>
Streptobacterium	Rod	..	—	Homo-	<i>Lactobacillus</i> <i>Carnobacterium</i>
Streptococcus	Coccus	—	—	Homo-	<i>Streptococcus</i> <i>Enterococcus</i> <i>Lactococcus</i> <i>Vagococcus</i>
Betacoccus	Coccus	—	—	Hetero-	<i>Leuconostoc</i> <i>Oenococcus</i> <i>Weissella</i>
Microbacterium	Rod	+	+	Homo-	<i>Brochothrix</i>
Tetracoccus	Coccus	+ ^b	+	Homo-	<i>Pediococcus</i> <i>Tetragenococcus</i>

^a According to Orla-Jensen (1919).

^b In general pediococci are catalase negative but some strains produce a pseudocatalase that results in false positive reactions.

I fermenti lattici: tassonomia

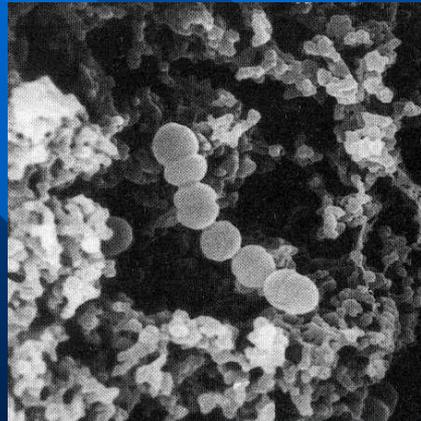


Le forme cocciche

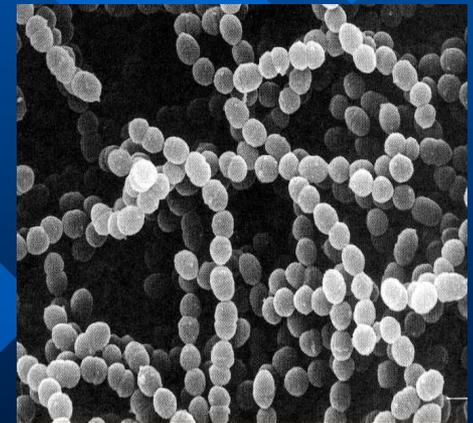
Tipo di fermentazione	Isomero ac. lattico	Morfologia	Genere
Omolattica	L(+)	Cocchi in catene	<i>Streptococcus</i> <i>Lactococcus</i> <i>Enterococcus</i>
Omolattica	DL o L	Cocchi in coppie o tetradi	<i>Pediococcus</i> <i>Tetragenococcus</i>
Eterolattica	D(-)	Cocchi in catene	<i>Leuconostoc</i> <i>Oenococcus</i>

ex genere *Streptococcus*

- Genere polifiletico comprendente:
 - Forme cocciche in catene (streptococchi)
 - omofermentanti (ac. lattico > 90% dei prodotti di fermentazione)
- In base a differenze fisiologiche e genotipiche è stato diviso in tre generi
 - *Streptococcus*
 - *Enterococcus*
 - *Lactococcus*



*Lactococcus
lactis*



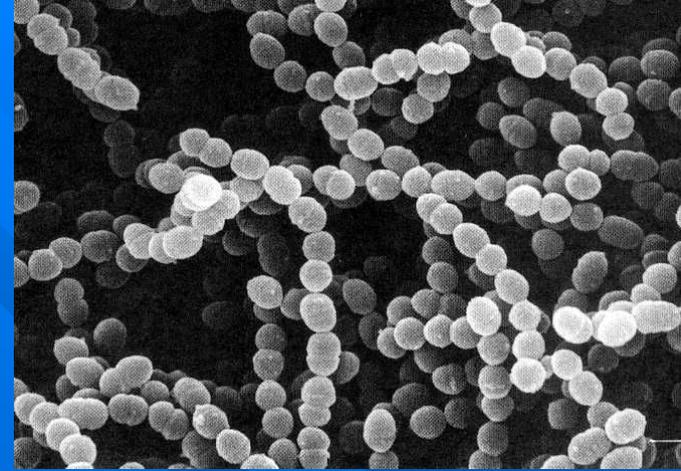
*Streptococcus
thermophilus*

Genere *Streptococcus*

- **Piogeni e parapiogeni:** agenti di malattie per uomo e animali.
 - ***Streptococcus pyogenes***: agente della scarlattina e di altre affezioni respiratorie e non
 - ***S. agalactiae***, *S. dysgalactiae*, *S. uberis*, *S. zooepidemicus* sono agenti di mastiti
- **Gli streptococchi orali** e alcuni dei *viridans* colonizzano la cavità orale e alcuni sono implicati nella formazione di carie
- **Altri** (*S. bovis*, *S. equinus*) sono associati al tratto gastro intestinale di animali

Genere *Streptococcus*

S. thermophilus è l'unica specie di interesse lattiero-casearia nel genere *Streptococcus*, utilizzata come starter e per la produzione di acido lattico e di ammonio lattato.



- termofilo (temp. opt. 37-42°C, ma può crescere bene fino a 45°C),
- poco tollerante agli stress ambientali
- il suo habitat è praticamente limitato ai prodotti lattiero- caseari.
- fermenta attivamente il lattosio
- i ceppi commerciali e di collezione (al contrario di quelli isolati da habitat naturali) non fermentano il galattosio

Genere *Enterococcus*

- Normali abitanti del tratto intestinale di uomo e di animali, ma facilmente isolati anche dall'ambiente, da latte e formaggi.
- Sono specie relativamente **termotolleranti** (possono sopravvivere alla pastorizzazione) e il loro ruolo nella maturazione di alcuni formaggi (p.es. Fontina) è stato riconosciuto.
- Molti ceppi possono produrre **batteriocine** a spettro più o meno ampio.
- Dal momento che possono in alcuni casi causare malattie (endocarditi, affezioni dell'apparato genito-urinario, forse gastroenteriti) il loro uso è tuttora visto con sospetto.
- Specie più importanti in microbiologia lattiero-casearia: *Enterococcus faecium*, *E. faecalis*, *E. durans*.

Enterococcus



E. faecalis

E. faecium

E. durans

E. hirae

Habitat: materiale vegetale, tratto gastrointestinale, prodotti lattiero-caseari

Mesofili/termofili: range per la crescita 10-45°C

Poco tolleranti ai bassi pH

Tollerano le basse a_w (NaCl 6,5%)

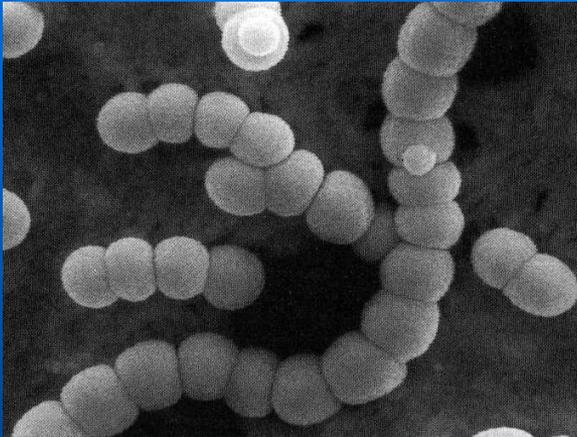
Omofermentanti obbligati, producono acido lattico L(+)

Tollerano altre condizioni avverse (bile, inibitori)

Genere *Lactococcus*

- Specie molto importanti per l'uso come starter nella produzione di formaggi e lattici fermentati.
- Sono specie mesofile (solo rari ceppi possono crescere a 45°C, ma la temperatura ottimale è 28-32°C), e moderatamente tolleranti al NaCl (generalmente <6,5%).
- I ceppi di origine lattiero-casearia fermentano tutti il lattosio e il galattosio e sono generalmente in grado di usare efficacemente la caseina come fonte di peptidi e aminoacidi.
- Molti ceppi possono produrre batteriocine a spettro ampio (p.es. *nisina*) o ristretto (lattococcine) ed esopolisaccaridi di interesse industriale

Lactococcus



Lc. lactis ssp. lactis

Lc. lactis ssp. cremoris

Lc. lactis ssp. hordniae

Lc. plantarum

Lc. raffinolactis

Lc. garviae

Habitat: prodotti lattiero-caseari, prodotti vegetali, pesce...

Mesofili: range per la crescita 10-42°C

Poco tolleranti i bassi pH (optimum 6.3)

Relativamente poco tolleranti le basse a_w (minimo 0.93; NaCl 0-4%)

Omofermentanti obbligati, producono acido lattico L(+)

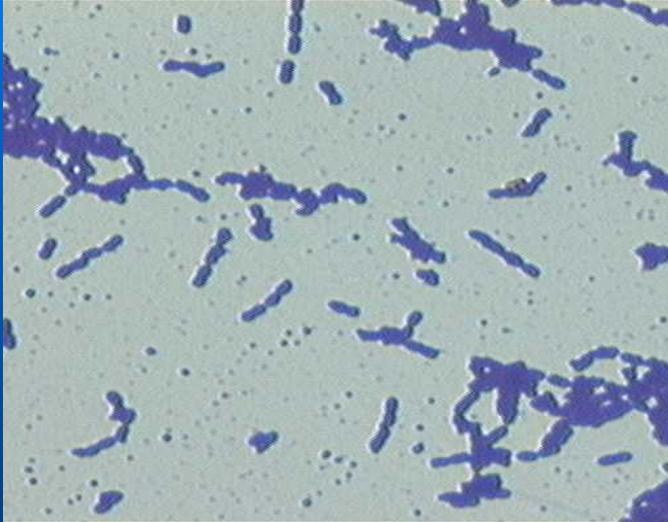
Genere *Leuconostoc*

- Da un punto di vista filogenetico è più vicino al genere *Lactobacillus* che agli altri gruppi di forma coccica.
- specie eterofermentanti obbligate (producono esclusivamente acido D(-)lattico).
- Recentemente è stato diviso in 3 generi (*Leuconostoc*, *Weissella* e *Oenococcus*) con molte specie nuove. importantissime in molte fermentazioni alimentari che in alcuni casi possono comportarsi come agenti di deterioramento.
- Le uniche specie importanti in microbiologia lattiero-casearia sono raggruppate nel genere *Leuconostoc* e sono importanti soprattutto per la produzione di aromi (diacetile) dal citrato in creme e latti fermentati, burro e formaggi.

Genere *Leuconostoc*

- Sono specie mesofile con temperature ottimali più basse di quelle dei lattococchi
- Alcune specie (*Leuc. mesenteroides* subsp. *dextranicum* e subsp. *mesenteroides*) possono produrre quantità rilevanti di **polisaccaridi** (destrano) dal saccarosio e altre possono produrre **batteriocine**, spesso attive contro *L. monocytogenes*.
- *Leuc. mesenteroides* spp. *mesenteroides* può dominare gli stadi iniziali delle fermentazioni per la produzione di **sauerkraut e cetrioli**
- Nei prodotti carnei e nel pesce *Leuc. carnosum* e *Leuc. gelidum* (importanti per il controllo di *L. monocytogenes*) possono, in alcuni casi, comportarsi come agenti di deterioramento

Leuconostoc



- *Leuc. mesenteroides*
(ssp. *mesenteroides*, ssp. *cremoris*, ssp. *dextranicum*)
- *Leuc. lactis*
- *Leuc. argentinum*

Habitat: prodotti lattiero-caseari, prodotti vegetali

Mesofili: range per la crescita 10-30°C

Tollerano i bassi pH

Relativamente tolleranti le basse a_w

Eterofermentanti obbligati, producono acido lattico D(-), CO₂ ed etanolo/acetato, alcune sottospecie fermentano il citrato, con produzione di diacetile

Genere *Pediococcus*

- Morfologia: cocci a tetradi
- metabolismo omofermentativo, (produzione di acido lattico racemico (DL) o L(+)).

Le specie più importanti in microbiologia lattiero-casearia (importanti nella microflora secondaria di molti formaggi) sono:

- *Pc. acidilactici*
- *Pc. pentosaceus*

- Entrambi sono in grado di crescere da 10 a 40°C, il secondo fino a 50°C.
- Tollerano bene elevate concentrazioni di NaCl
- Molte specie producono batteriocina a spettro ampio (pediocina AcH) o ristretto, in grado di inibire i patogeni

Pediococcus

Table 10

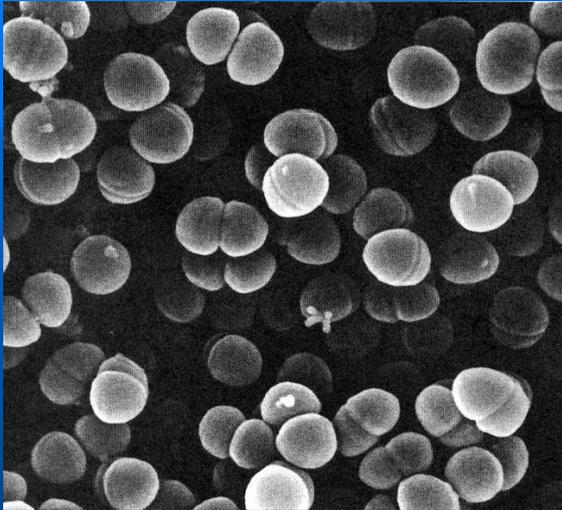
Species of *Pediococcus* and related tetrad-forming bacteria and their common habitats

Bacterial name	Habitat
<i>P. damnosus</i>	Breweries (beer cloudiness); wine and cider
<i>P. dextrinicus</i>	Beer, silage
<i>P. parvulus</i>	Sauerkraut, silage
<i>P. inopinatus</i>	Sauerkraut, beer
<i>P. pentosaceus</i>	Vegetable material, fermented sausages, milk and dairy products
<i>P. acidilactici</i>	Vegetable material, milk and dairy products
<i>Aerococcus</i>	Not associated with foods
<i>urinae-equi</i> ^a	
<i>Tetragenococcus</i>	Soy sauce, pickling brines (requires salt for growth)
<i>halophilus</i> ^b	

^a Previously *P. urinae-equi*.

^b Previously *P. halophilus*.

Pediococcus



P. acidilactici

P. pentosaceus

Habitat: vegetali, carni, prodotti lattiero-caseari

Mesofili (*P. pentosaceus*: opt 26-32°C)/Termofili (*P. acidilactici*: opt. 37-40°C)

Tollerano i bassi pH (<5,4)

Tolleranti le basse a_w (*pentosaceus* cresce a NaCl 10%)

Omofermentanti obbligati, producono acido lattico DL, fermentano molti zuccheri ma fermentano debolmente il lattosio

I fermenti lattici: forme bastoncellari

- Attualmente classificate in 3 generi: *Lactobacillus*, *Weissella*, *Carnobacterium*
- In passato tutte classificate nel genere *Lactobacillus*, un genere tuttora eterogeneo
 - da un punto di vista filogenetico (G+C% variabile da 35% a 55%)
 - da un punto di vista ecologico (specie diverse possono essere isolate da molti habitat ricchi in sostanza organica)
 - da un punto di vista fisiologico (sono presenti sia omofermentanti obbligati che eterofermentanti facoltativi e obbligati)
 - da un punto di vista morfologico

Genere *Lactobacillus*

E' un genere estremamente eterogeneo da un punto di vista ecologico, genetico, tassonomico, fisiologico.

Comprende specie:

- di forma bastoncellare, con cellule isolate o in catene
- catalasi negative
- asporigene
- raramente mobili
- in grado di fermentare il glucosio con produzione di acido lattico (**omofermentanti ed eterofermentanti**).

Genere *Lactobacillus*

La vecchia suddivisione in sottogruppi

omofermentanti obbligati
eterofermentanti facoltativi
eterofermentanti obbligati

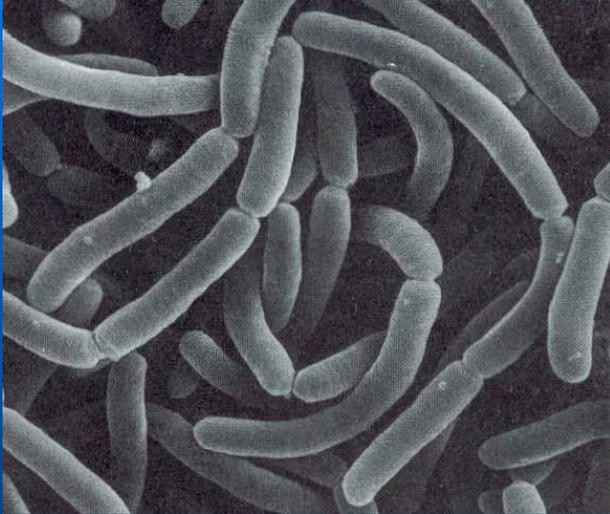
è attualmente superata ma rimane ancora utile
per la sua semplicità di applicazioni

Gruppi di lattobacilli sulla base delle caratteristiche fenotipiche

1. **Omofermentati obbligati:** non producono gas né da glucosio né da gluconato, sono generalmente termofili, non sono generalmente in grado di fermentare i pentosi

Lb. acidophilus, *Lb. amylophilus*, *Lb. amylovorus*, *Lb. aviarius ssp. araffinosum*, *Lb. crispatus*, ***Lb. delbrueckii*** (*ssp. bulgaricus*, *ssp. delbrueckii*, *ssp. lactis*), *Lb. farciminis*, *Lb. gallinarum*, ***Lb. gasseri***, ***Lb. helveticus***, *Lb. jensenii*, ***Lb. johnsonii***, *Lb. kefiranofaciens*, *Lb. mali*, *Lb. ruminis*, *Lb. salivarius* (*ssp. salicinus*, *ssp. salivarius*), *Lb. sharpeae*.

Il gruppo *delbrueckii*

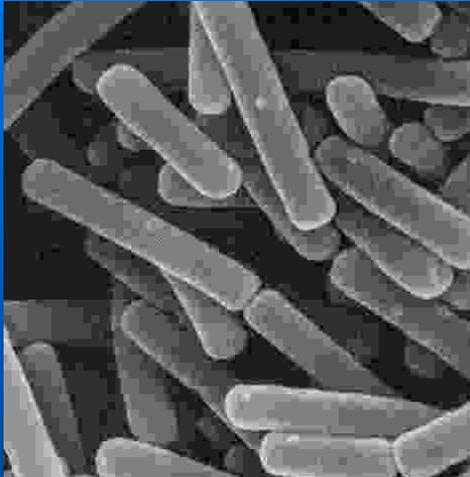


Il gruppo *delbrueckii*

- *Lb. delbrueckii* ssp. *delbrueckii*
- *Lb. delbrueckii* ssp. *bulgaricus*
- *Lb. delbrueckii* ssp. *lactis*

- Habitat: prodotti lattiero-caseari
- Termofili: range per la crescita 20-50°C
- Acidurici, tolleranti i bassi pH
- Poco tolleranti le basse a_w (minimo 0.96; NaCl 0-4%)
- Omofermentanti obbligati, producono acido lattico, molti ceppi di *Lb. delbrueckii* ssp. *bulgaricus* non fermentano il galattosio

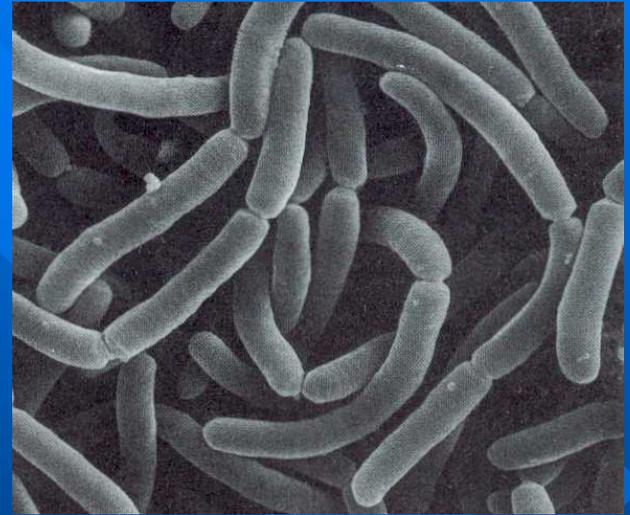
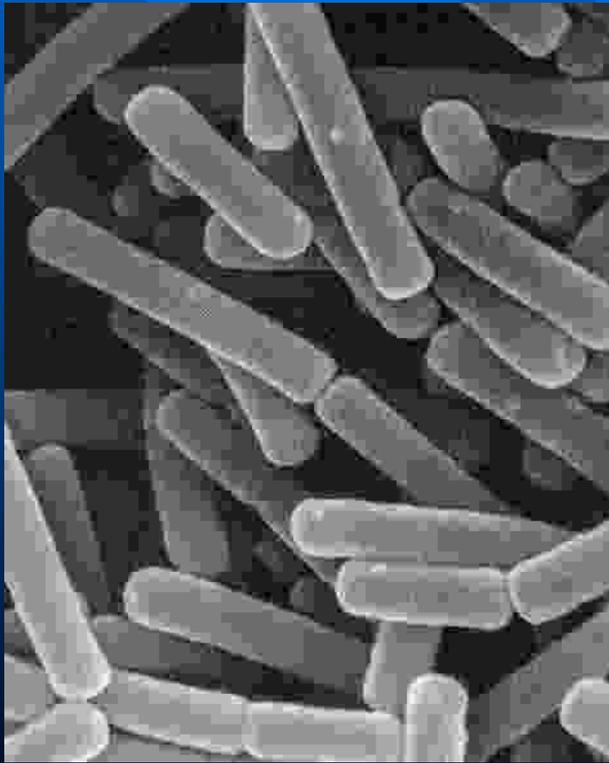
Lactobacillus helveticus



Lb. helveticus

- Habitat: prodotti lattiero-caseari
- Termofili: range per la crescita 20-52°C,
- Acidurici, tolleranti i bassi pH
- Poco tolleranti le basse a_w (minimo 0.96; NaCl 0-4%)
- Omofermentanti obbligati, producono acido lattico DL, attività proteinasica e peptidasica elevate

Lb. helveticus



Lb. delbrueckii spp.
bulgaricus

Il gruppo *Lb. acidophilus*

Table 7

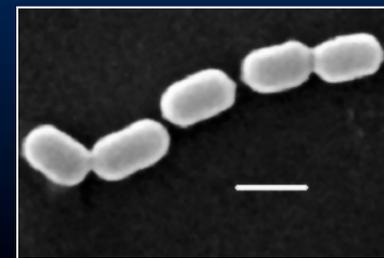
Phenotypic features of the species within the *Lactobacillus acidophilus* 'group' (modified after Mitsuoka, 1992)

Species	Homology group	Occurrence	mol% G+C in the DNA	Fermentation of			Growth in NaCl (%)		
				Melibiose	Raffinose	Trehalose	3.5	4.5	5
<i>Lb. acidophilus</i>	A-1 ^a /Ia ^b	?	32-37	-	V	+	-	-	-
<i>Lb. amylovorus</i>	A-3 ^a /Ib ^b	S/C	40	V	+	+	-	-	-
<i>Lb. crispatus</i>	A-2 ^a /Ic ^b	M/P	35-38	+	+	-	+	-	-
<i>L. gallinarum</i>	A-4 ^a /Id ^b	P	33-36	+	+	-	+	+	-
<i>Lb. gasserii</i>	B-1 ^a /IIa ^b	M/C	33-35	-	-	+	+	+	V
<i>Lb. johnsonii</i>	B-2 ^a /IIb ^b	M/S/P	32-38	V	V	+	+	+	+

M, man; S, swine; C, cattle; P, poultry.

^a Source: Johnson et al. (1980).

^b Source: Lauer et al. (1980).

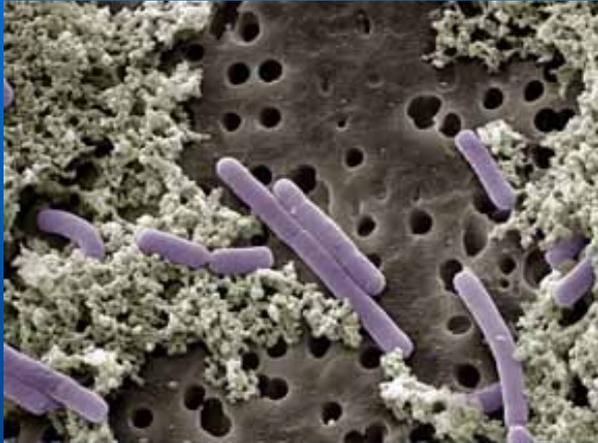


Gruppi di lattobacilli sulla base delle caratteristiche fenotipiche

2. **Eterofermentanti facoltativi:** non producono gas da glucosio ma possono produrlo da gluconato, sono generalmente mesofili, sono generalmente in grado di fermentare i pentosi, hanno generalmente cellule in catena.

Lb. acetotolerans, *Lb. agilis*, *Lb. alimentarius*, *Lb. bifementans*, ***Lb. casei***, *Lb. coryniformis ssp. coryniformis e ssp. torquens*, ***Lb. curvatus***, *Lb. graminis*, *Lb. hamsteri*, *Lb. homiochii*, *Lb. intestinalis*, *Lb. murinus*, ***Lb. paracasei (ssp. paracasei e ssp. tolerans)***, *Lb. paraplantarum*, ***Lb. pentosus***, ***Lb. plantarum***, ***Lb. rhamnosus***, ***Lb. sakei***.

Lattobacilli mesofili eterofermentanti facoltativi



Lb. casei

Lb. paracasei

Lb. rhamnosus

Lb. plantarum

Lb. sakei

Lb. curvatus

Habitat: prodotti lattiero-caseari, carni, impasti acidi, vegetali

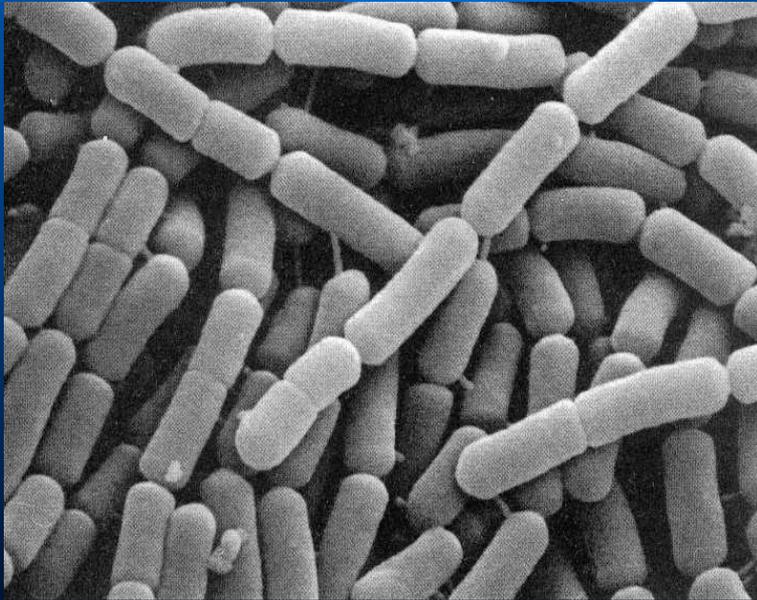
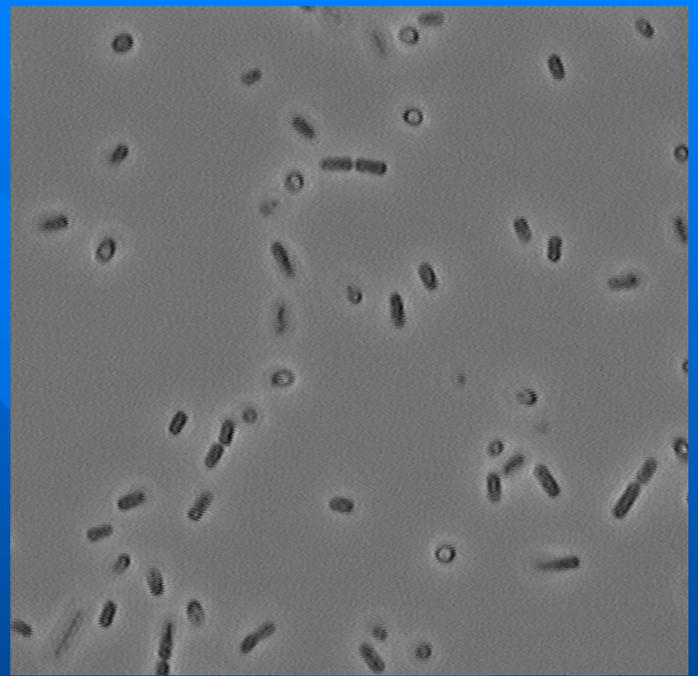
Mesofili: range per la crescita 4-45°C

Acidurici, tolleranti i bassi pH

Tollerano le basse a_w

Eterofermentanti facoltativi, producono acido lattico L o DL,
attività proteinasica e peptidasica elevate

Lb. plantarum



Lb. casei

Gruppi di lattobacilli sulla base delle caratteristiche fenotipiche

3. **Eterofermentanti obbligati:** ex sottogenere *Betabacterium*, producono gas da glucosio e da gluconato, sono generalmente mesofili, sono in grado di fermentare i pentosi, hanno generalmente cellule in catena.

Lb. brevis, *Lb. bucheneri*, *Lb. collinoides*, *Lb. fermentum*,
Lb. fructivorans, *Lb. fructosus*, *Lb. hilgardii*, *Lb. kefir*,
Lb. malefermentans, *Lb. oris*, *Lb. panis*, *Lb. pontis*,
Lb. parabuchneri, *Lb. parakefir*, *Lb. reuteri*,
Lb. sanfrancisco, *Lb. suebicus*, *Lb. vaccinostercus*,
Lb. vaginalis.

Carnobacterium

- I membri del genere *Carnobacterium* hanno caratteristiche in comune con gli enterococchi (tolleranza a pH elevati, a inibitori come tallio acetato), cui sono vicini anche da un punto di vista genotipico.
- Non sono acidurici e non sono in grado di crescere a pH <5,4.
- Producono piccole quantità di CO₂.
- Psicrotrofici.
- Producono batteriocine, alcune delle quali a spettro relativamente ampio.
- Recentemente è stato dimostrato che le specie *C. piscicola* e *C. divergens* possono essere associate con alcuni formaggi freschi.

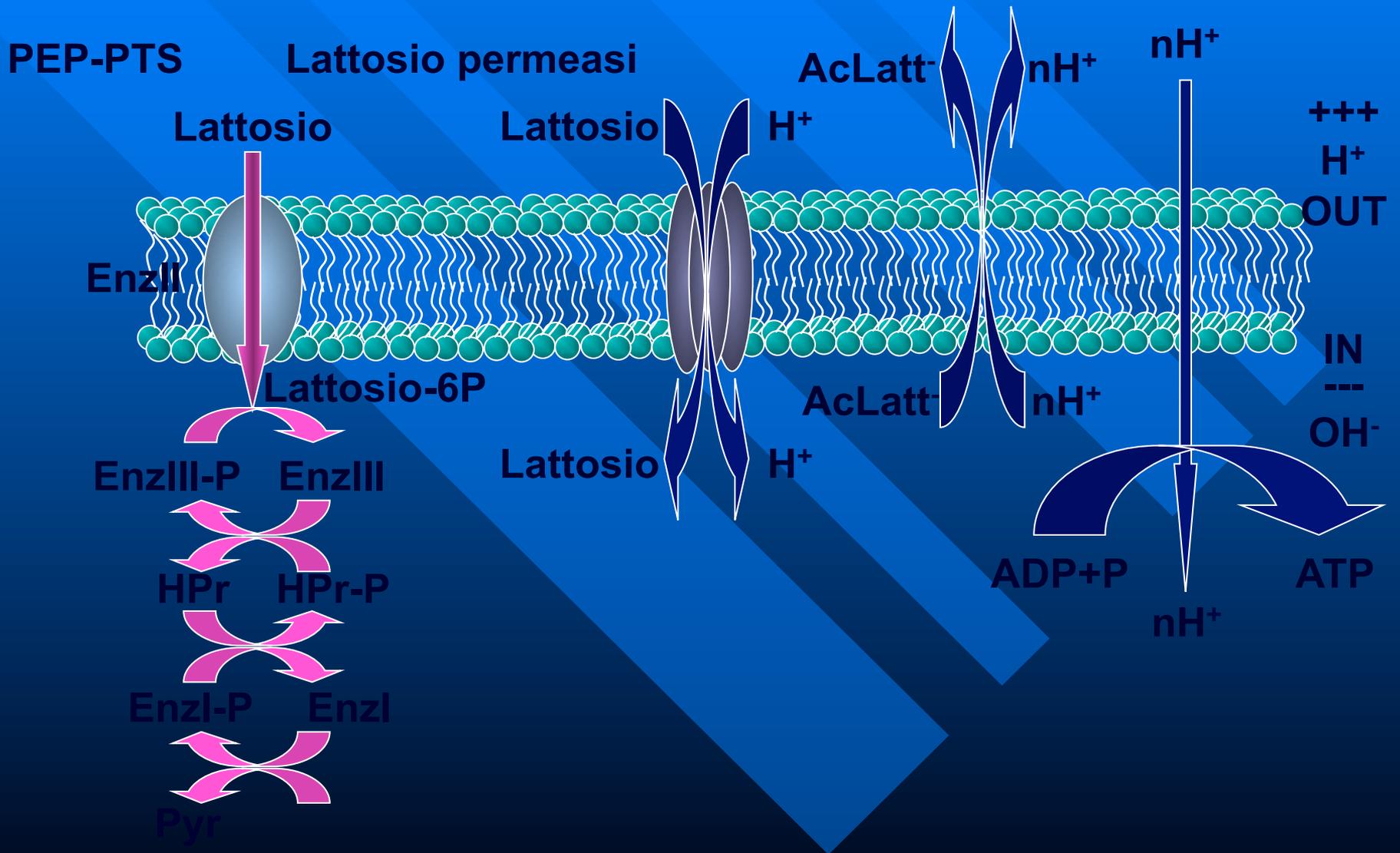
Il metabolismo dei fermenti lattici

- Sono chemioorganotrofi con metabolismo fermentativo, che ricavano l'energia prevalentemente per fosforilazione a livello del substrato
- Normalmente non utilizzano l'ossigeno come accettore di elettroni, anche se dispongono di ossidasi flaviniche e perossidasi e possono mostrare attività superossido dismutasica in presenza di Mn
- Alcuni fermenti lattici (*Lc. lactic*, *Enterococcus*) possono sintetizzare citocromi in presenza di gruppo eme preformato
- Alcuni fermenti lattici possono sintetizzare catalasi in presenza di gruppo eme
- Hanno in genere auxotrofie multiple per gli aminoacidi e quindi necessitano di aminoacidi preformati nel substrato, oltre che di alcuni altri fattori di crescita

Caratteristiche principali del metabolismo del lattosio nei fermenti lattici

Specie/genere	Trasporto	Via met.	Idrolisi	Prodotti principali (mol/mol lattosio)	Isomero del lattato
<i>Lactococcus</i>	PEP-PTS	EMP	p β gal	4 ac.latt.	L
<i>Leuconostoc</i>	Permeasi	PK	β gal	2 ac.latt. + 2 EtOH + 2 CO ₂	D
<i>S. thermophilus</i>	Permeasi	EMP	β gal	2 ac.latt.	L
<i>Lb. delbrueckii</i>	Permeasi	EMP	β gal	2 ac.latt.	D
<i>Lb. helveticus</i>	Permeasi	EMP	β gal	2 ac.latt.	DL
<i>Bifidobacterium</i>	Permeasi	C2C4	β gal	2 ac.latt. + 3 ac. acet. + altro	

Sistemi di trasporto ed energia



Idrolisi del lattosio

a. lattococchi, *Lb. casei*:

β -Pgal: β -D-fosfogalattoside galattoidrolasi

lattosio-6-fosfato \rightarrow galattosio-6-fosfato +
glucosio

b. *Str. thermophilus*, lattobacilli

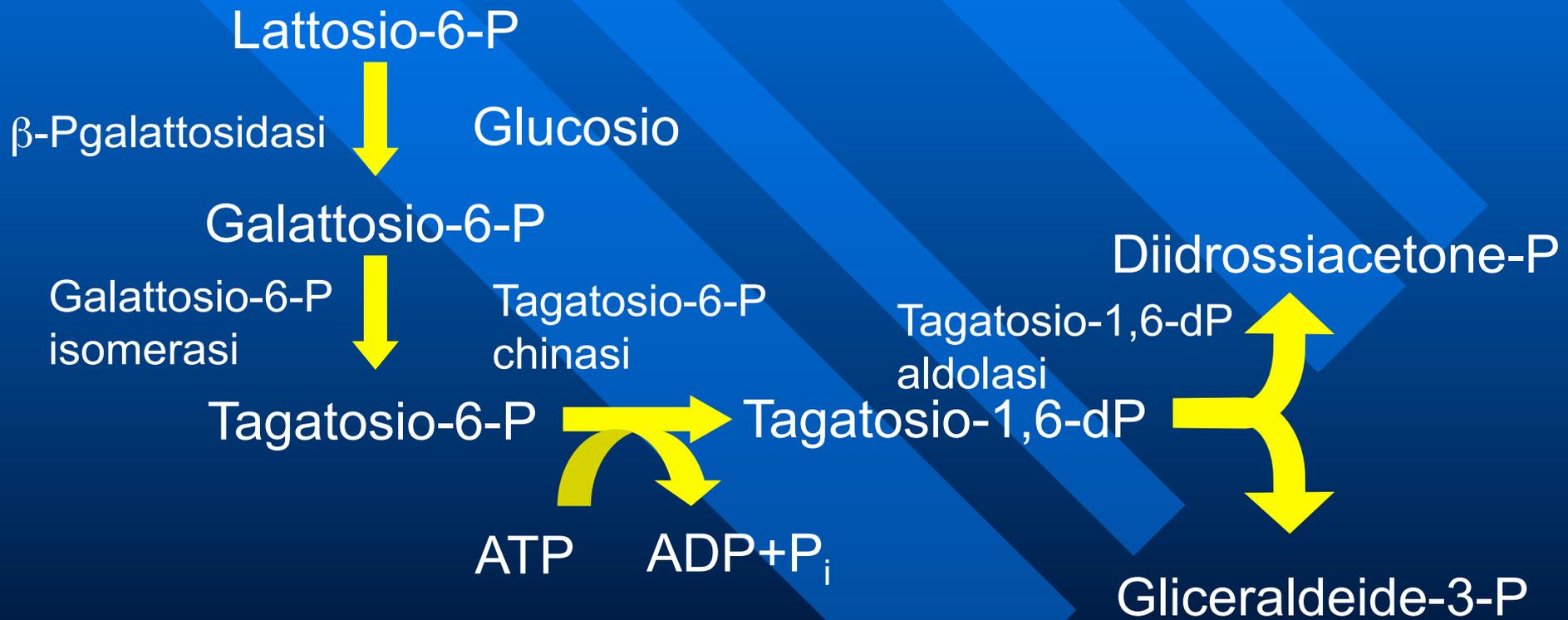
omofermentanti, *Leuconostoc*, *Lactoc. lactis*

NCDO7962:

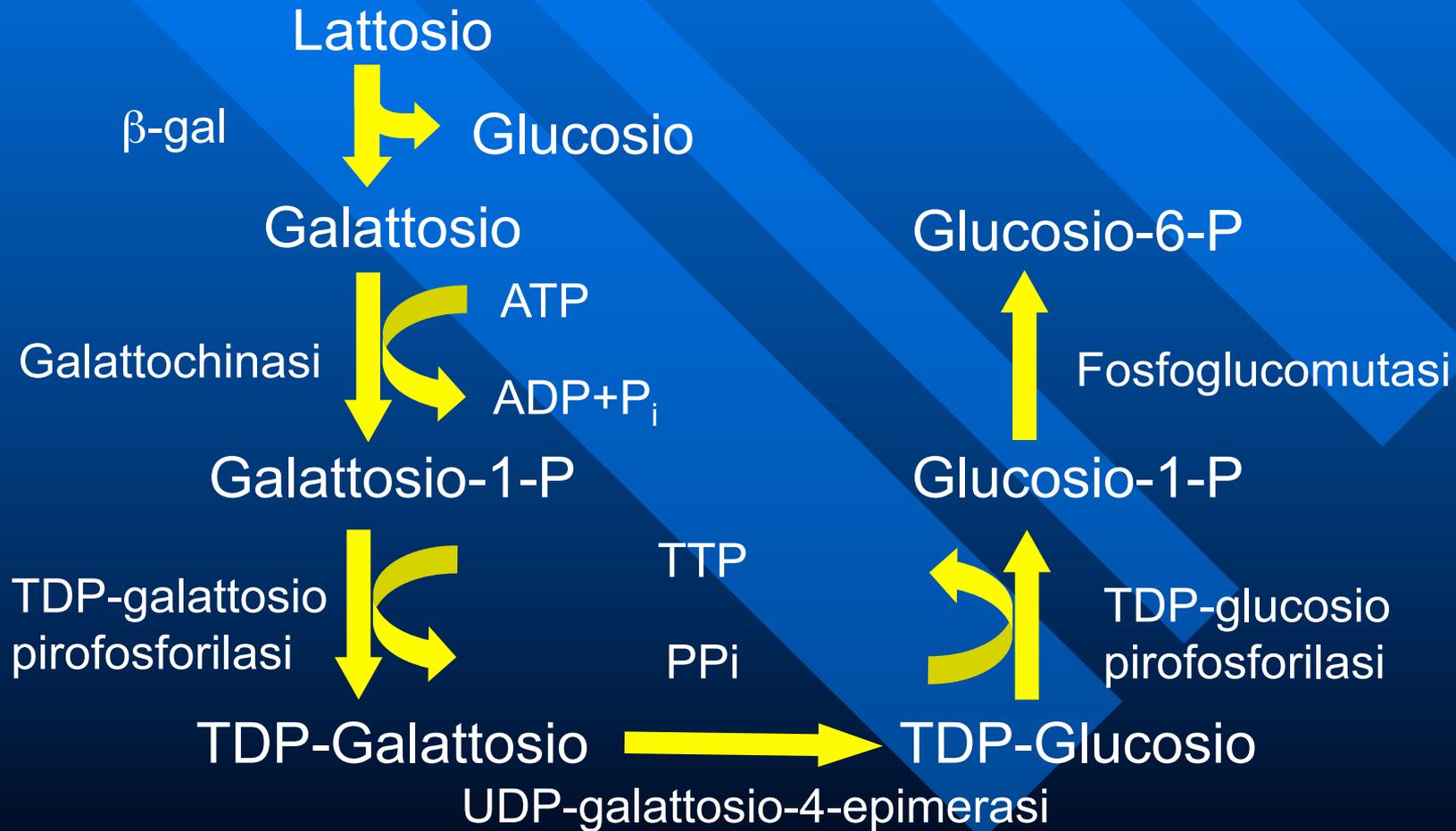
β -gal: β -D-galattoside galattoidrolasi

lattosio \rightarrow galattosio + glucosio

Vie di utilizzazione del galattosio: via del tagatosio-6-fosfato (lattococchi, *Lb. casei*)

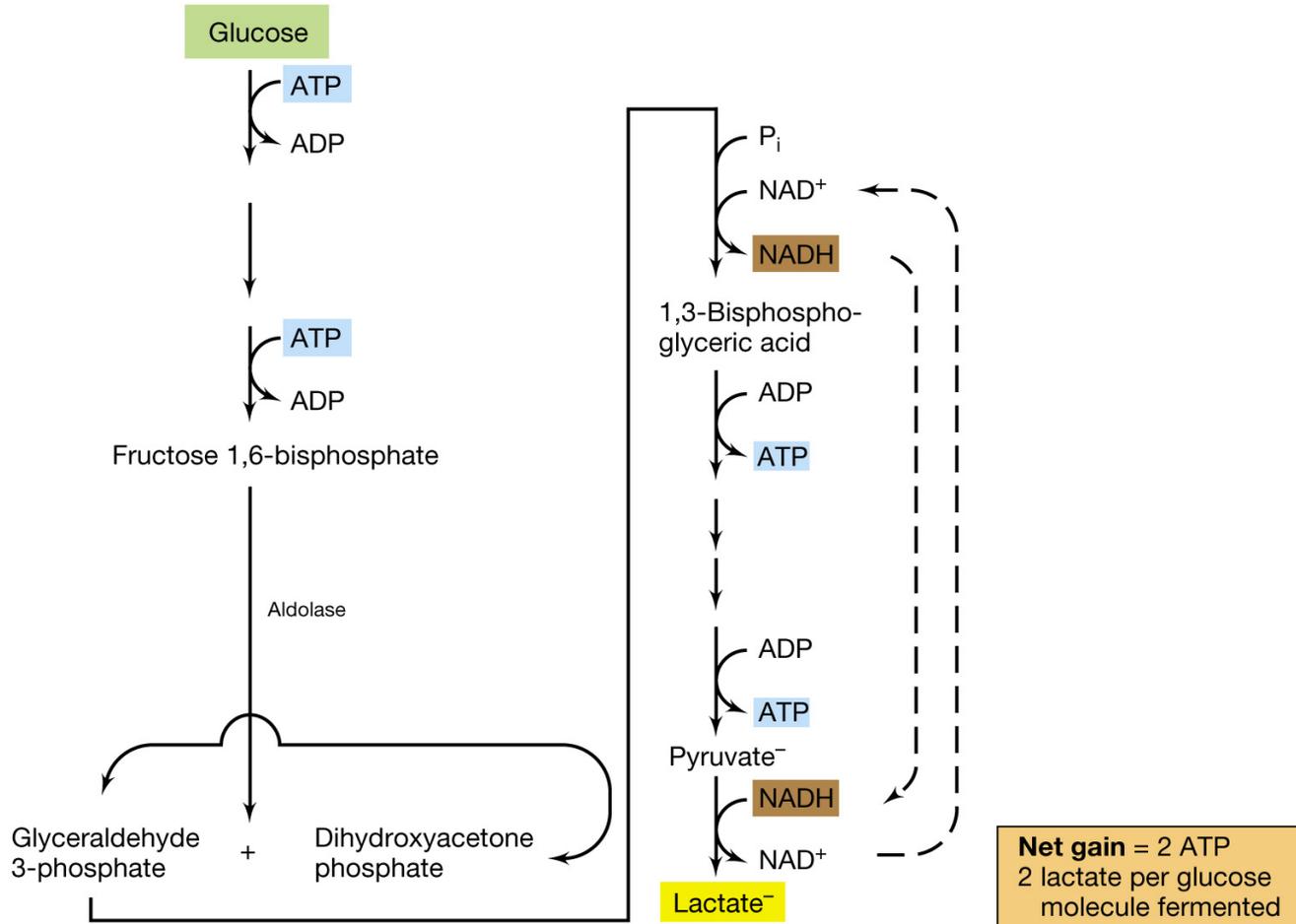


Vie di utilizzazione del galattosio: via di Leloir (*Leuconostoc*, alcuni *S. thermophilus*, lattobacilli omofermentanti)

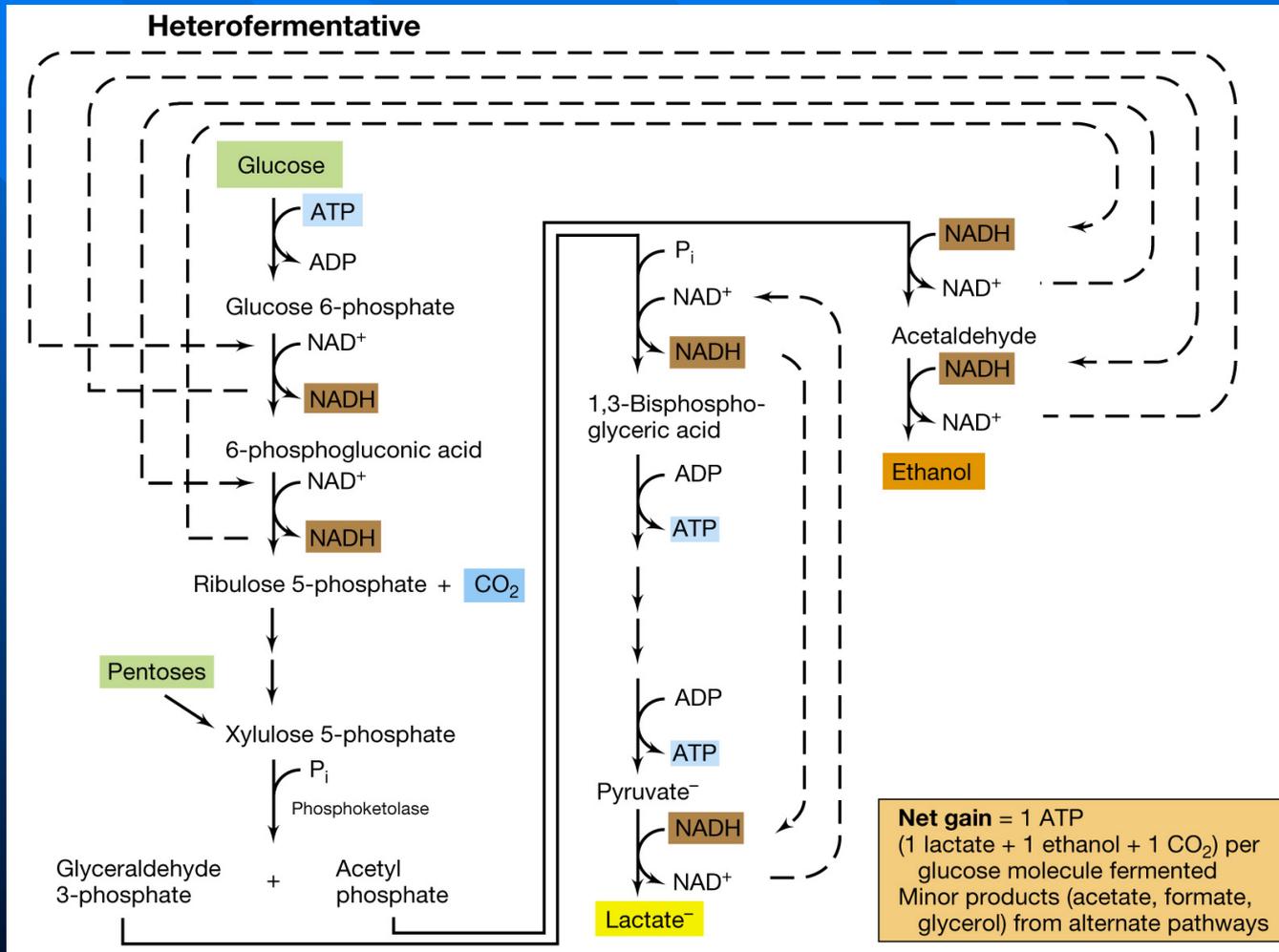


La via omofermentativa

Homofermentative



La via eterofermentativa



Scissione C2-C4 (via di *Bifidobacterium*).

I membri del genere *Bifidobacterium* utilizzano una via eterofermentativa diversa che prevede una scissione C2-C4, senza produzione di CO₂.

Il **fruttosio-6-fosfato** viene scisso da una **fosfochetolasi** specifica in **eritrosio-4-fosfato** e **acetilfosfato**. Dopo riarrangiamenti degli zuccheri fosfati viene prodotto ac. lattico e ac. acetico.

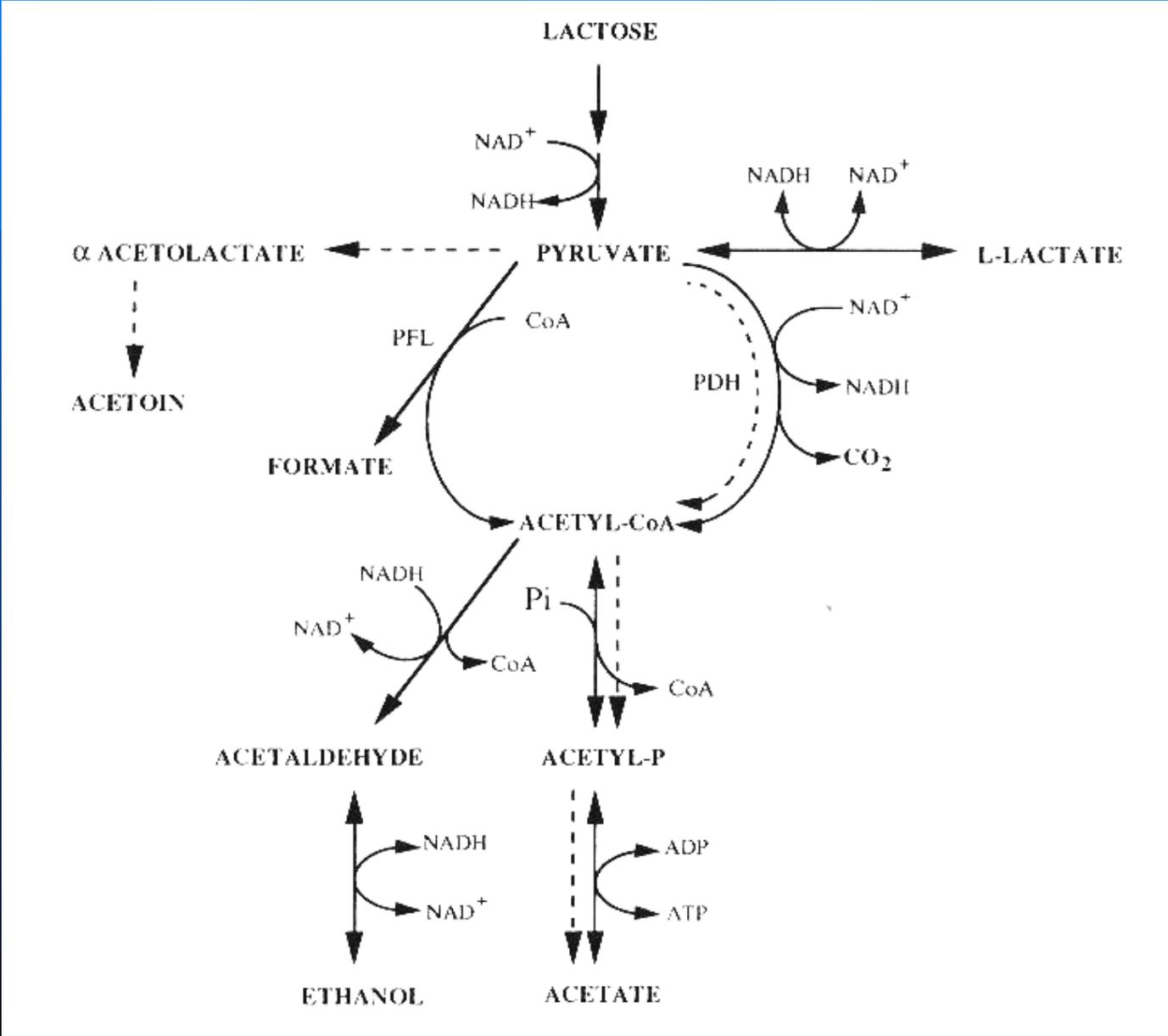
Il bilancio è 2 glucosio --> 2 ac.lattico + 3 ac. acetico.

La resa in ATP può essere più elevata che nella via EMP, fino a 5 moli di ATP ogni 2 moli di glucosio fermentato.

Metabolismo del piruvato

- Il **piruvato** prodotto con vari meccanismi nelle vie metaboliche indicate deve essere in genere **ridotto ad acido lattico** per mantenere il corretto bilancio fra piridinnucleotidi ridotti e ossidati.
- L'enzima responsabile è la **lattico deidrogenasi (LDH)**. Nei diversi fermenti lattici esistono D-LDH o L-LDH o entrambe. La LDH dei lattococchi, di alcuni lattobacilli mesofili e dei bifidobatteri è allosterica e richiede fruttosio difosfato (FDP) per l'attivazione.

Metabolismo del piruvato in *Lactococcus*

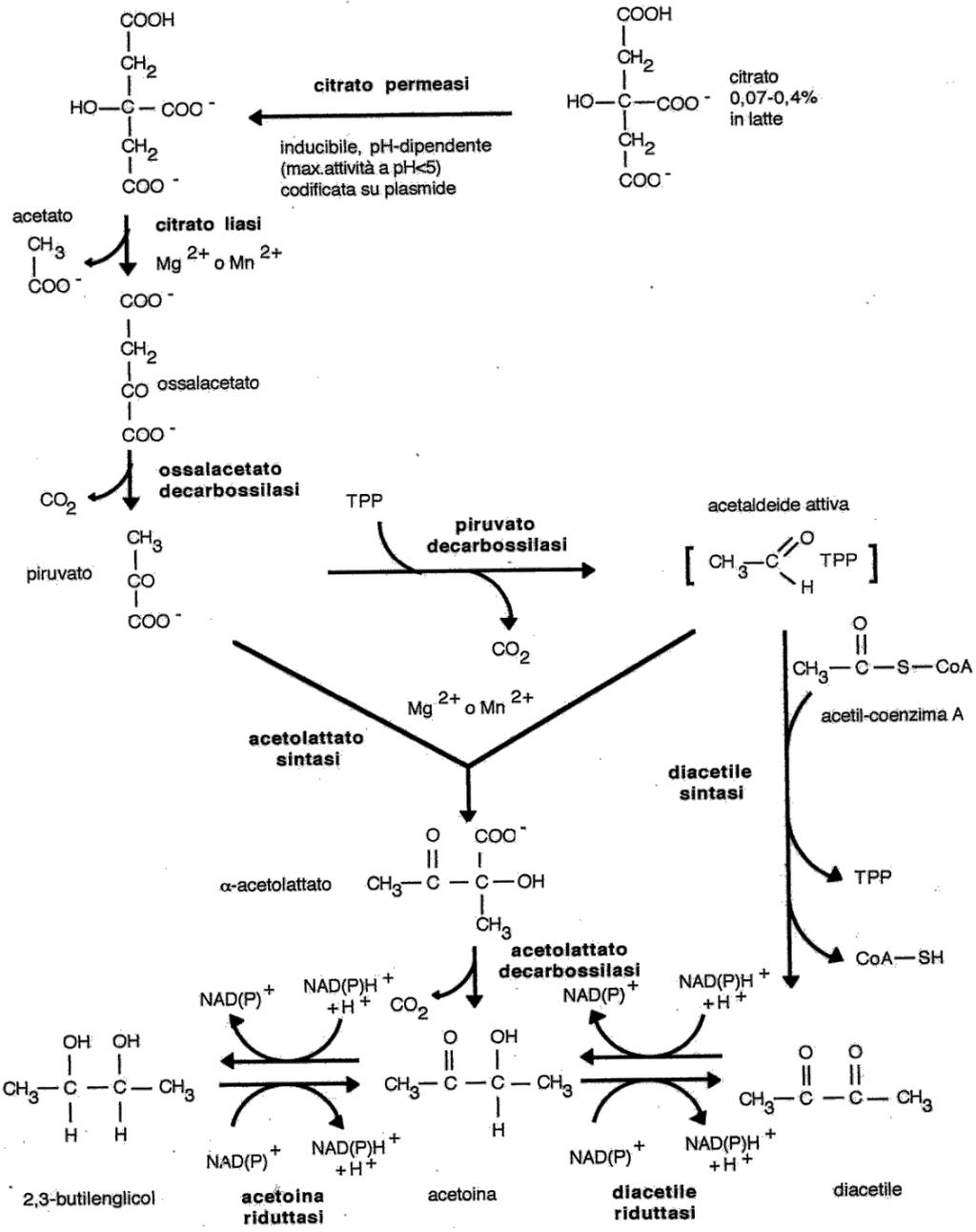


Metabolismi alternativi del piruvato

- Anche nelle specie omofermentanti, tuttavia, è disponibile il corredo enzimatico per **metabolismi alternativi del piruvato**, con produzione di prodotti finali caratteristici di fermentazioni acidomiste (formiato, acetato, CO₂, etanolo, etc.).
- Queste vie sono normalmente inibite in condizioni normali (abbondanza di glucosio o lattosio) ma possono essere attivate in presenza di concentrazioni molto alte di galattosio o molto basse di glucosio e lattosio.

Metabolismo del citrato e produzione di composti aromatici.

- La capacità di utilizzare il citrato in presenza di carboidrati fermentescibili si ritrova in *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* biovar *diacetylactis*, *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *cremoris*, *Leuc. lactis*, *Lactobacillus casei*, *Lb. platarum*.

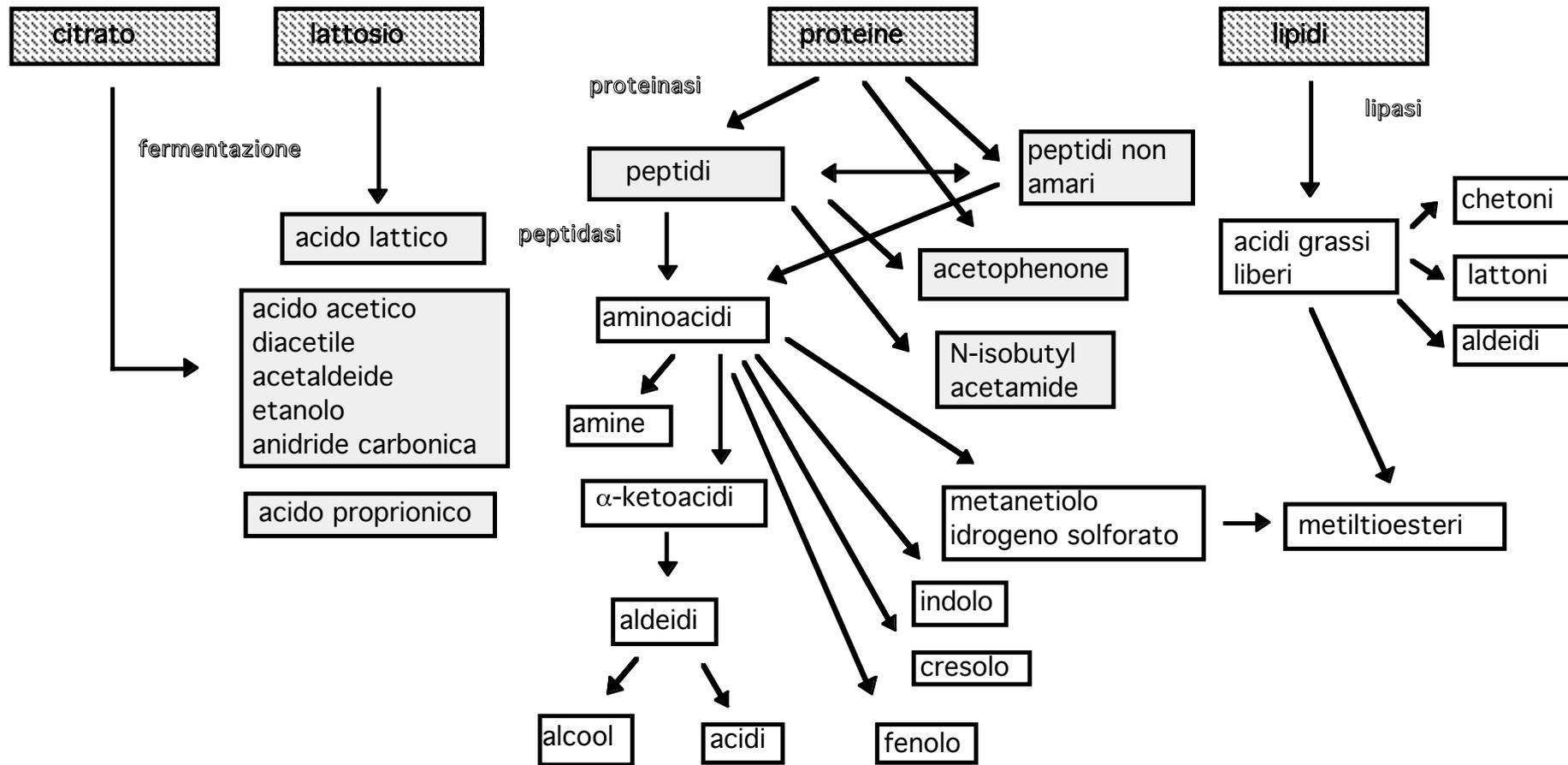


Metabolismo del citrato

Metabolismo delle proteine e dei composti azotati.

- Le esigenze nutrizionali dei fermenti lattici sono complesse: le diverse specie richiedono vari aminoacidi, vitamine, basi azotate, acidi grassi.
- I fermenti lattici si servono di un **complesso sistema proteolitico** per ottenere dalle proteine del latte gli aminoacidi e peptidi di cui hanno bisogno.
- Il sistema è composto da proteinasi legate alla parete, sistemi di trasporto per aminoacidi, e peptidi, peptidasi e proteinasi intracellulari.

Metabolismo degli aminoacidi



Espulsione dei prodotti di rifiuto

- Allo scopo di mantenere l'omeostasi del pH intracellulare i LAB devono essere in grado di espellere i prodotti del metabolismo fermentativo.
- Allo scopo viene utilizzato prevalentemente un sistema di **simporto H^+ /lattato** che può servire a generare ulteriore energia.
- Come tutti i microrganismi, i fermenti lattici dispongono di una ATPasi F₀/F₁ che in condizioni normali serve soprattutto all'espulsione di protoni per il mantenimento del pH intracellulare e per la generazione di un gradiente chemiosmotico che viene poi sfruttato dai sistemi di trasporto.

Genere *Propionibacterium*



Notevole importanza nella produzione di formaggi tipo Emmenthal, nei quali vengono aggiunti come starter selezionati e svolgono un ruolo determinante per:

- la creazione della struttura (**formazione di occhiatura**)
- sapore caratteristici (**ac. propionico, acetico, prolina, etc.**).

La presenza dei propionibatteri è generalmente **indesiderata** in altri formaggi a pasta dura, nei quali possono determinare fenomeni di gonfiore tardivo.

Caratteristiche del genere *Propionibacterium*

- **Morfologia: bacilli pleomorfici**, spesso difteroidi o a forma di clava (tuttavia le cellule possono essere coccoidi, bifide o persino ramificate); le cellule possono essere singole, in paia, disposte a V, Y o aggregati irregolari.
- Gram +, asporigeni, immobili.
- Da anaerobi stretti ad aerotolleranti
- Generalmente catalasi positivi.
- G+C% da 53 a 67 mol%.
- i prodotti di fermentazione comprendono **acido propionico**, **acido acetico**, **CO₂** e quantità più ridotte di ac. isovalerico, formico, succinico o lattico.

Comprendono due gruppi di specie:

- Classiche di habitat lattiero-caseario
- Isolate da epidermide (propionibatteri cutanei)

4 specie importanti in habitat lattiero caseari:

- ***Propionibacterium freudenreichii***: in passato si distinguevano le sottospecie *freudenreichii* (nitrato+, lattosio -) e *shermanii* (nitrato-, lattosio+); la distinzione non ha senso tassonomico a causa della elevatissima omologia DNA-DNA fra le due sottospecie.
- ***Propionibacterium jensenii***: Isolabile da foraggi insilati.
- ***Propionibacterium acidi-propionici***: Isolabile da prodotti lattiero-caseari.
- ***Propionibacterium thoenii***: pigmentato, non utilizzato come starter.

La funzione principale dei propionibatteri come **starter** è produrre una quantità sufficiente e bilanciata di **anidride carbonica** e **composti aromatici** durante la produzione di **formaggi di tipo svizzero**.

La specie più utilizzata è ***Propionibacterium freudenreichii***.

Attività metaboliche

Fermentano gli zuccheri e il lattato con formazione di ac. propionico, ac. acetico e CO₂. In generale il lattato permette una migliore acidificazione degli zuccheri ed è la fonte di energia più importante per i propionibatteri nei formaggi

Nella fermentazione propionica da lattato il bilancio è:



- Sono meno esigenti in aminoacidi dei batteri lattici; **possono crescere su ammonio nitrato ma sono stimolati da molti aminoacidi, specialmente solforati;**
- **Richiedono per la crescita alcune vitamine,** quali **biotina e acido pantotenico** (indispensabile e **tiamina** (stimolatoria)
- sono inoltre in grado di produrre quantità rilevanti di **vitamina B12.**
- Il pH di crescita non deve essere troppo < 5
- **Non sono attivamente lipolitici,** ma possono ottenere acidi grassi a lunga catena dal grasso del formaggio.

- La **prolina** (oltre ad altri peptidi e aminoacidi) **é importantissima nell'aroma tipico dei formaggi svizzeri**: essa viene generalmente liberata per idrolisi dei peptidi rilasciati dai batteri lattici, ad opera delle peptidasi di *Propionibacterium*.

Altri meccanismi possibili, ma meno importanti:

- liberazione diretta della prolina dalla caseina;
- sintesi e rilascio di prolina nel mezzo.

I propionibatteri sono in grado di produrre **diacetile** e **acetoino**, specialmente se cresciuti a bassa temperatura (21°C). Dal glucosio viene prodotto più diacetile che dal citrato.

Altri composti aromatici prodotti dai propionibatteri sono:

- acetaldeide
- propionaldeide
- etanolo
- propanolo
- dimetilsulfide
- acido isovalerico

Difetto dei formaggi tipo Emmenthal

Fermentazione secondaria:

produzione di acido propionico e gas in una fase in cui il formaggio non è più elastico, con spaccatura degli occhi



causata da una **stimolazione dei propionibatteri** da parte degli aminoacidi liberati in caso di abbondante presenza di fermenti lattici non-starter.

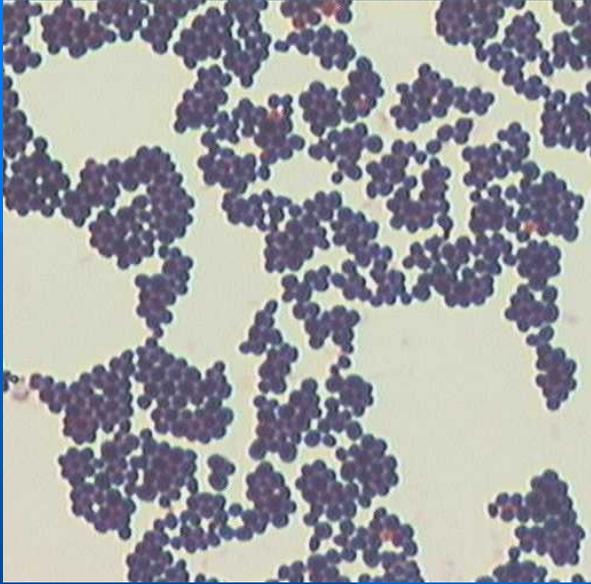
Micrococcus* e *Staphylococcus

I membri dei generi *Micrococcus* e *Staphylococcus* hanno una notevole importanza per i prodotti lattiero-caseari

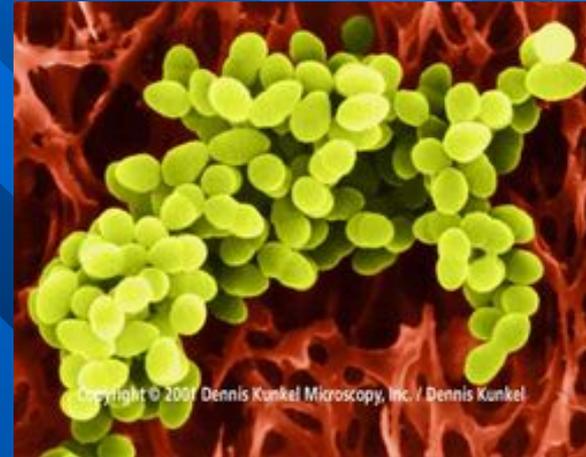
- dal punto di vista **igienico** (specie patogene del genere *Staphylococcus*)
- per la **maturazione** di alcuni formaggi (*Micrococcus* e alcune specie coagulasi negative del genere *Staphylococcus*).

Appartengono alla Famiglia ***Micrococcaceae*** (*Micrococcus*) e delle ***Staphylococcaceae*** (*Staphylococcus*)

Sono geneticamente distanti



Staphylococcus spp.



Micrococcus spp.

Genere *Micrococcus*

- ✓ La maggior parte delle specie del genere *Micrococcus* hanno come habitat l'epidermide di animali a sangue caldo.
- ✓ Nel **latte a bassa carica microbica** (<5000 ufc/ml) i micrococchi possono rappresentare il 30-90% della microflora: alcuni sono infatti associati con i dotti galattofori e l'epidermide delle mammelle; tuttavia, in **latte munto asetticamente** sono presenti solo nelle prime frazioni.
- ✓ Relativamente **termoresistenti** (circa l'1% di una popolazione può sopravvivere a 62,8°C per 30 min).
- ✓ Frazione notevole della **microflora termodurica del latte**.

Genere *Micrococcus*

- ✓ La loro presenza in numeri eccessivi é associata **con scarsa igiene delle attrezzature per la mungitura meccanica**, dove possono accumularsi e contaminare continuamente il latte, raggiungendo anche 10^4 ufc/ml.
- ✓ Le due specie più importanti sono: ***M. luteus*** e ***M. varians***
- ✓ Producono **pigmenti**, di solito gialli.
- ✓ Sono **mesofili** (ma alcuni possono crescere anche $< 10^{\circ}\text{C}$) e **relativamente alotolleranti** (sono stati isolati anche da salamoie)
- ✓ Hanno una certa **attività lipolitica e proteolitica** e possono contribuire alla maturazione dei **formaggi**, soprattutto quelli a **maturazione superficiale** (Taleggio, robiola, fontina, brick, limburgero, tilsit).

Genere *Staphylococcus*

- ✓ frequentemente associati con l'epidermide di animali a sangue caldo, ma si trovano anche su carni, in suolo e acqua.
- ✓ La specie più importante é *S. aureus*, che può essere agente di tossinfezioni alimentari.
- ↘ le tossinfezioni stafilococciche causate da prodotti lattiero-caseari sono una percentuale molto bassa (0.8%) del totale delle tossinfezioni stafilococciche.

Ecologia di *S. aureus*

Fonti di isolamento:

- ambiente, aria, acqua, supporti dove si manipolano le derrate
- **Vie respiratorie superiori:** 30-50% delle persone sane sono portatrici di *S. aureus*
- epidermide: in uno studio é stato isolato dalle mani del 20% delle persone sottoposte a controllo
- può essere presente nella gola, nelle feci, peli, capelli e ferite infette di uomo e animali.
- **E' uno dei principali agenti di mastiti**, ma non viene rilasciato nel latte a livelli particolarmente elevati.

Condizioni per la crescita di *S. aureus*

E' un **cattivo competitore**: normalmente la crescita é ridotta in presenza di una microflora normale.

- **Temperatura:** 4-46°C; optimum fra 20 e 35°C. Il range per la crescita varia da un alimento all'altro e con il variare dei fattori estrinseci; la produzione di tossine é lenta a $T < 20^\circ\text{C}$. **E' distrutto dai normali trattamenti di pastorizzazione.**
- **pH:** Il range per la produzione di tossine é 5-9.
- **E' il microrganismo patogeno in grado di crescere con a_w più ridotta (0.84-0.86 in condizioni ottimali)**

Enterotossina stafilococcica

- **Tossinfezioni stafilococciche:** principalmente prodotti a base di carne e di uova, più raramente i prodotti lattiero-caseari.
- **Enterotossina**, prodotta nel cibo durante la crescita (incubazione 4-8 h).
- **L'enterotossina** è una proteina termostabile con MW 26000-36000 Da
- 6 tipi serologicamente distinti: A, B, C1, C2, D, E (resistenti ai trattamenti termici, agli enzimi proteolitici e alla disidratazione) che sopprimono le funzioni del sistema immunitario, causando infiammazione dell'intestino.
- A causa della sua scarsa competitività, *S. aureus* non è in genere in grado di crescere a livelli sufficienti a produrre tossina nei prodotti lattiero-caseari fermentati, a meno che la fermentazione non si arresti per presenza di antibiotici o fagi.

Altre specie del genere *Staphylococcus* isolate da prodotti lattiero-caseari

✓ *S. epidermidis*

✓ *S. saprophyticus*

✓ *S. equorum* recentemente isolato nella microflora superficiale del formaggio Tilsit.

Enterobacteriaceae

- **Bacilli Gram-**, asporigeni, anaerobi facoltativi
- **Ubiquitari**: isolati da suolo, acqua, frutta, verdura, piante e alberi, animali, insetti, uomo.
- **Mobili** per flagelli peritrichi o immobili
- **Mesofili** (molte specie crescono a T di refrigerazione)
- Catalasi e ossidasi negativi
- Il gruppo comprende numerose specie patogene.
- Importanti sia per il **deterioramento** che per la **sicurezza igienico-sanitaria** dei prodotti lattiero-caseari.
- ↘ La loro crescita in latte produce **sapore di sporco, di stalla, con un retrogusto fecale**

Enterobacteriaceae

Chemiorganotrofi, metabolismo ossidativo e fermentativo

Sulla base del tipo di fermentazione (acido-mista o butandiolo) e della produzione di gas, si distinguono 4 tipi:

I. fermentazione acido-mista

a. producono $\text{CO}_2 + \text{H}_2$

b. non producono gas

I. fermentazione butandiolo

a. producono $\text{CO}_2 + \text{H}_2$

b. producono solo CO_2

Coliformi

- Sono utilizzati come **indicatori di contaminazione fecale**, di **insufficienza dei trattamenti termici** o di **cattive condizioni igieniche**.
- Bacilli Gram negativi, non sporigeni, aerobi-anaerobi facoltativi, capaci di moltiplicarsi in presenza di sali biliari o di tensioattivi aventi le medesime proprietà e capaci di fermentare il lattosio con produzione di acido, gas e aldeidi in 48 h a 35-37°C.
- **Coliformi termotolleranti**: coliformi con le proprietà di cui sopra a $44 \pm 0.5^\circ\text{C}$.

Coliformi

Origine fecale riconosciuta

E. coli

K. pneumoniae

K. oxytoca

Ent. cloacae

Ent. aerogenes

Citrobacter freundii

C. diversus

C. amalonaticus

Acquatici o tellurici

K. terrigena

Ent. amigenus

Ent. intermedium

Serratia plymuthyca

S. fonticola

Rahnella aquatilis

Buttiauxiella

agrestis

Probabilmente non fecali

K. planticola

Ent. agglomerans

Ent. gergoviae

Ent. sakazakii

S. marcescens

S. liquefaciens

S. marinorubra

S. ombrifera

Escherichia coli

- Normale membro della microflora intestinale
- Alcuni serotipi possono provocare gastroenteriti:

FEEC: (*E. coli* patogeni facoltativi) sono serotipi associati con casi sporadici di diarrea.

ETEC: (*E. coli* enterotossici): sono ceppi che producono una **tossina termolabile (LT)** e/o una **tossina termostabile (ST)**. Periodo di latenza 8-24 h, seguito da diarrea di tipo colerico, con forti dolori intestinali, febbre, mal di testa, vomito che può durare alcuni giorni. Alcuni casi sono stati causati da formaggi contaminati (soprattutto tipo Camembert).

EPEC: serotipi enteropatogeni la cui patogenicità non è dovuta solo alla produzione di tossine, ma anche all'adesione alla mucosa intestinale.

EIEC: (*E. coli* enteroinvasivi) sindrome di tipo dissenterico, con sangue nelle feci, tenesmi, crampi, vomito. Tempo di latenza 2-24 h, durata mediana 48 h.

VTEC: (*E. coli* produttori di verocitotossina, indicati anche come EHEC, enteroemorragici: *E. coli* O157:H7): causano una sindrome enteroemorragica, con sangue nelle feci; frequentemente associati con il consumo di carne poco cotta, ma possono essere ritrovati anche in prodotti lattiero-caseari

Altri patogeni

Shigella (dysenteriae, boydii, flexneri, sonnei): sindrome dissenterica; sono organismi relativamente poco resistenti alle condizioni avverse, ma se contaminano in alto numero un prodotto possono sopravvivere anche a lungo.

Yersinia enterocolitica: sindrome gastroenterica, talvolta con complicanze a carico di altri organi. Tempo di latenza 24-36 h, diarrea, vomito, crampi, dolori localizzati in corrispondenza dell'appendice, malessere generale, febbre. Molti serotipi sono di origine ambientale e sono innocui. E' stata isolata da formaggi freschi, latte al cioccolato, latte in polvere. E' psicrotrofico.

Salmonella: E' uno dei più frequenti agenti di tossinfezioni nei prodotti lattiero-caseari. Sono possibili diversi tipi di sindrome, a seconda dei serotipi

Bacillus e Clostridium

- ✓ Batteri Gram-positivi sporigeni
- ✓ *Bacillus*: aerobi o anaerobi facoltativi
- ✓ *Clostridium*: anaerobi
- ✓ Notevole importanza nei prodotti lattiero-caseari

I prodotti caseari, tuttavia, fungono raramente da veicolo delle specie patogene (*B. cereus*, *C. botulinum*, *C. perfringens*).

- ✓ **L' habitat naturale** della maggioranza dei batteri sporigeni é il **suolo**. Possono crescere abbondantemente in insilati (specie se deteriorati); possono anche provenire da feci, materiale vegetale in decomposizione, acqua.

Bacillus cereus

E' in grado di causare **tossinfezioni** (2 tipi: sindrome emetica e sindrome diarroica); i livelli di popolazione richiesti sono molto alti ($>10^6$ cfu/g) e generalmente non vengono raggiunti nei prodotti lattiero-caseari. E' inoltre in grado di produrre enzimi esocellulari:

- **proteasi**: coagulazione senza produzione di acidi in latte pastorizzato;
- **fosfolipasi C**: sapore amaro e coagulazione in crema.

Alcuni ceppi producono **endospore** particolarmente resistenti (problemi in latte UHT).

La maggior parte dei ceppi sono **mesofili** (sono stati isolati diversi ceppi psicrotrofici, che possono causare il deterioramento del latte pastorizzato).

B. subtilis

- Specie di *Bacillus* più comune in latte (insieme a *B. cereus*).
- Può causare **filante** e rendere **viscoso il latte**, oltre a produrre una coagulazione enzimatica del latte sia crudo che pastorizzato.
- Cresce rapidamente fra 20 e 45°C.
- Colonie di aspetto variabile, spesso irregolari, grinzose, mucose.

B. coagulans

- E' un agente di **flat-sour** meno termoresistente e più acidofilo (benché per iniziare la crescita richieda pH 6, alcuni ceppi possono crescere a pH 4) di *B. stearothermophilus*.
- E' stato isolato da **latte condensato inacidito**.
- Cresce bene fra 25 e 55°C.

Bacillus stearothermophilus

- ✓ Termofilo obbligato, anaerobio facoltativo, che non forma gas da glucosio.
- ✓ Benché non sia importante per il latte liquido, può causare **problemi ai prodotti lattiero-caseari in scatola** (latte condensato sterile):
 - ↳ é agente del **flat-sour** (acidificazione del prodotto, senza formazione di gas e deformazione del contenitore).
- ✓ E' in grado di crescere a 65°C (max 75°C, min. 30-45) ma non a pH <5.
- ✓ La sorgente principale sembrano essere gli addensanti, l'amido e lo zucchero utilizzati nell'industria conserviera.

Genere Clostridium

- ✓ Anaerobi (con gradi variabili di aerotolleranza, ma in genere richiedono un ambiente riducente per la crescita e la sporificazione)
- ✓ Catalasi negativi.
- ✓ Sporigeni.

Il genere comprende oltre 60 specie.

Solo alcune sono importanti in microbiologia lattiero-casearia.

Genere Clostridium

Habitat

- Provengono da suolo e sedimenti di vario tipo, oltre che dal tratto digerente degli animali.
- Raggiungono il latte attraverso le feci, il suolo e i mangimi (specialmente insilati).
- Non si moltiplicano in latte, ma conte di butirrici superiori a 1 spora/ml possono rendere il latte inadatto alla produzione di formaggi a lunga stagionatura.

Il gruppo dei **clostridi butirrici causano il gonfiore tardivo**, nei formaggi, producendo acido butirrico e grandi quantità di gas dal lattato.

Alcuni sono anche putrefacenti e la loro crescita è associata ad odori sgradevoli.

Specie importanti del genere *Clostridium* nei prodotti lattiero-caseari

Clostridium thermosaccharolyticum

- ✓ Saccarolitico, non proteolitico.
 - ✓ Temperatura ottimale di crescita 55°C.
 - ✓ Anaerobio termofilo, che produce spore molto termoresistenti.
- E' stato isolato da latte condensato sterile e latte sterile.

Clostridium butyricum

E' uno dei principali responsabili del **gonfiore tardivo** nei formaggi

E' in grado di coagulare il latte (coagulo tumultuoso) ma non digerisce il coagulo.

Cresce fra 25 e 37°C.

Clostridium tyrobutyricum

Causa irrancidimento e gonfiore tardivo dei formaggi.

Più resistente a pH bassi e NaCl del precedente.

Saccarolitico, ma non proteolitico.

Temperatura ottimale per la crescita è 37°C.

Cl. botulinum e *Cl. perfringens* (due patogeni di interesse alimentare) creano pochi problemi nella maggior parte dei prodotti lattiero-caseari.

Le intossicazioni da *Cl. botulinum* causate da prodotti lattiero caseari (soprattutto formaggi fusi e creme, come il recente caso registrato in Italia di mascarpone contaminato) sono solo il 2% del totale

I microrganismi psicrotrofici

Gruppo eterogeneo di microrganismi accomunato dalla capacità di crescere a temperature di refrigerazione.

Fra essi sono compresi:

- ✓ i veri **psicrofili**, che hanno un optimum per la crescita intorno a 10°C e un massimo a 20°C,
- ✓ i **mesofili psicrotrofici**, che pur avendo un optimum per la crescita compreso fra 25 e 30°C, possono crescere a 0-5°C.

Psicrotrofici

Gram negativi, aerobi, generalmente ossidasi positivi e mobili

Necessitano di alte aw e pH per la crescita, non resistono ai trattamenti termici.

Alcuni possono essere relativamente **resistenti ai trattamenti di disinfezione.**

Specie: *Pseudomonas fluorescens*, *P. putrefaciens*, *P. putida*, *Flavobacterium spp.*, *Alteromonas*

- **Provengono** da suolo, acqua, materiale vegetale
- **Crescono** rapidamente in latte e sulle superfici e negli impianti contaminati

Psicrotrofici

Possono causare seri **problemi di deterioramento** perché:

- ✓ possono produrre **odori e sapori anomali** (es. fruttato con *Pseudomonas*).
- ✓ possono produrre **enzimi proteolitici e lipolitici termostabili**, che possono sopravvivere ai trattamenti termici e causare deterioramento durante la conservazione.
- ✓ possono causare **alterazioni di aspetto, consistenza e colore**.
- ✓ possono **decomporre i composti aromatici**.

Altri batteri di interesse lattiero-caseario

Gram negativi:

- ✓ il **genere *Brucella*** comprende specie patogene per uomo e animali che possono essere trasmesse da latte e prodotti lattiero-caseari.
- ✓ ***Campylobacter jejuni*** è uno dei più frequenti agenti di gastroenteriti.

Per la sua scarsissima termoresistenza e capacità di sopravvivere nei formaggi, può essere veicolato soltanto da latte crudo.

Altri batteri di interesse lattiero-caseario

Gram positivi:

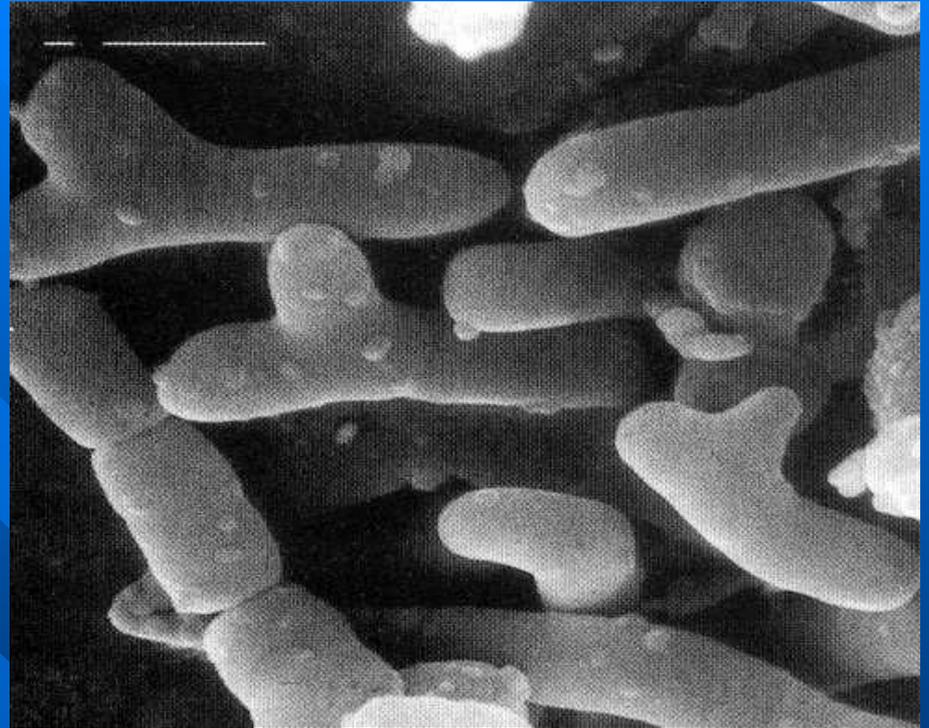
✓ Il genere ***Bifidobacterium*** comprende molte specie (*B. bifidum*, *B. infantis*, *B. longum*) di interesse probiotico.

Sono specie anaerobiche, con optimum di temperatura vicino ai 37°C, con morfologia variabile.

✓ ***Listeria monocytogenes*** è un pericoloso patogeno che può causare meningiti in soggetti immunocompromessi, neonati e bambini. Per la sua tolleranza alle condizioni avverse può essere presente nei formaggi, soprattutto quelli a maturazione superficiale

I corineformi

- Sono Gram+, aerobi, catalasi positivi, caratterizzati da una particolare morfologia.
- Alcune specie del genere *Corynebacterium* e *Mycobacterium* sono patogene per uomo e animali.
- I corineformi possono essere **termoresistenti** ma non causano generalmente problemi in latte pastorizzato a causa del loro metabolismo relativamente poco attivo.
- Microflora di molti **formaggi a maturazione superficiale**.
- *Brevibacterium linens* è responsabile della pigmentazione superficiale rossa di formaggi come **Limburger, Tilsit, Brick**. E' una specie lipolitica e proteolitica, mesofila, che può tollerare 2-10% NaCl, con una ridotta tolleranza all'acidità e può produrre batteriocine attive contro *L. monocytogenes*.



Corineformi

I lieviti

Generalmente associati con il **deterioramento** di diversi prodotti lattiero-caseari, alcuni svolgono **funzioni utili** in alcuni lattici fermentati (produzione di alcool e gas).

Le specie in grado di fermentare il lattosio possono causare **gonfiore precoce in alcuni formaggi**.

Sono parzialmente responsabili della **maturazione superficiale** di altri formaggi, decomponendo l'acido lattico e favorendo la crescita dell'altra microflora superficiale.

Possono dare **sapori anomali** (di lievito, di pane), **idrolizzare i grassi**, produrre **colori anomali** (p.es. specie pigmentate come *Rhodotorula* o *Cryptococcus*). Tollerano pH e a_w più basse di molti batteri.

I lieviti di interesse lattiero-caseario

Debaryomyces hansenii: ascosporigeno, forma cellule sferiche o ovali che si moltiplicano per gemmazione multipolare; raramente forma pseudomicelio molto primitivo. Non fermenta il lattosio ma può assimilarlo. Relativamente tollerante a basse aw, può crescere in salamoie.

Kluyveromyces fragilis: ascosporigeno, forma cellule globose, ellittiche o cilindriche; fermenta rapidamente il lattosio, con produzione di alcool e CO₂. Isolato da diversi latti fermentati, come Kefir e Koumiss.

I lieviti di interesse lattiero-caseario

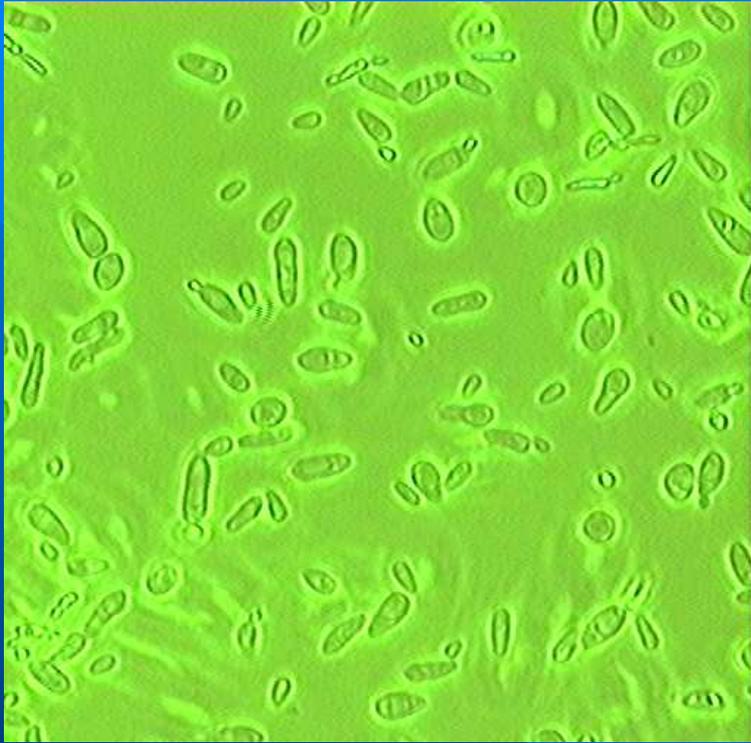
Kluyveromyces lactis: fermenta galattosio e lattosio; isolato da latte, latti fermentati e formaggi.

Saccharomyces cerevisiae: isolato da alcuni formaggi; non fermenta lattosio e galattosio.

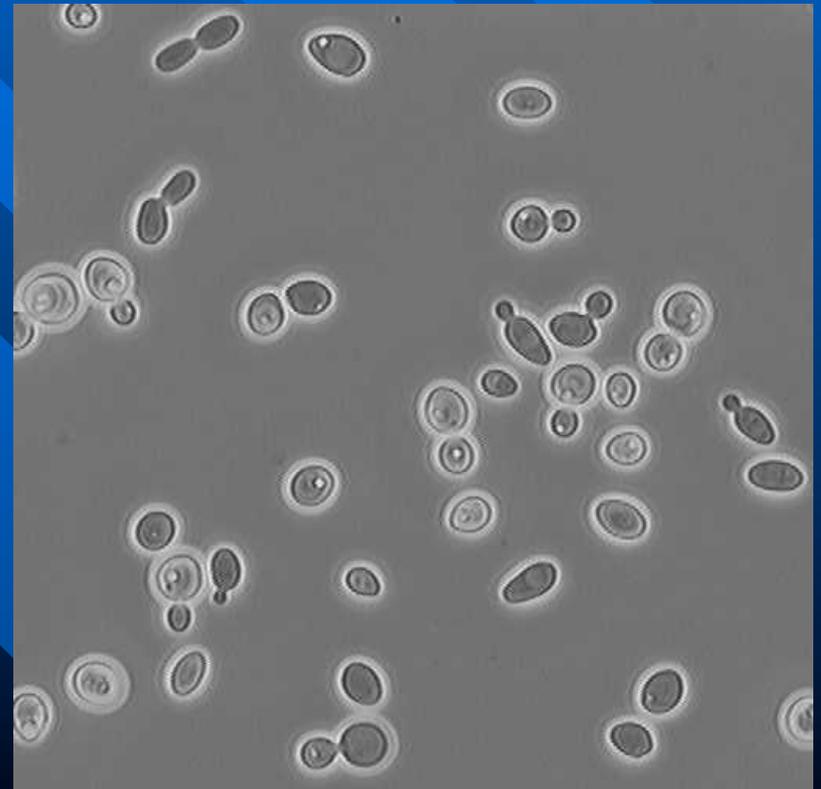
Yarrowia lipolytica non fermentante, in grado di idrolizzare grassi; isolata da burro e margarina.

Candida kefir: isolata da latticello, formaggi e kefir. Fermenta lattosio e glucosio.

Torulopsis lactis-condensi: isolata da latte condensato zuccherato; capace di fermentare glucosio ma non lattosio.



Y. lipolytica



S. cerevisiae

Muffe

I funghi filamentosi (muffe) sono microrganismi strettamente **aerobi**, in grado di crescere a pH e a_w più basse di molti batteri.

Molte muffe sono **fortemente lipolitiche e proteolitiche** e possono causare deterioramento di prodotti lattiero-caseari.

Alcune vengono usate come starter per la produzione dei formaggi erborinati, nei quali sono responsabili della produzione del sapore e dell'aroma caratteristico.

Muffe di interesse lattiero-caseario

Geotrichum candidum: comune sui prodotti lattiero-caseari e sulle attrezzature di centrale e di caseificio. Forma un micelio di aspetto polverulento per la produzione di artrospore. Causa **alterazioni di sapore** (sapore di muffa, di terra) oltre che **di aspetto**

Scopulariopsis brevis: causa **alterazioni in formaggi**, specialmente quelli erborinati, oltre che difetti di crosta.

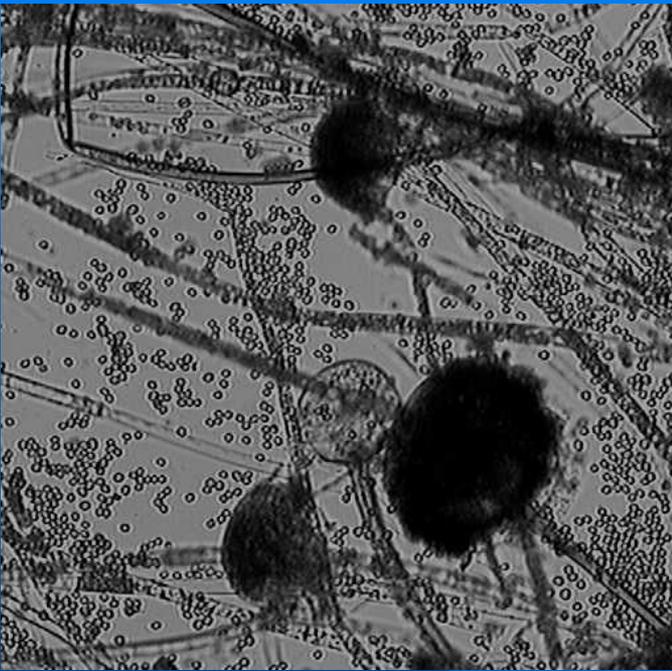
Sporendonema sebi: forma colonie discrete in latte condensato, con **alterazioni di aspetto e di odore**.

Muffe di interesse lattiero-caseario

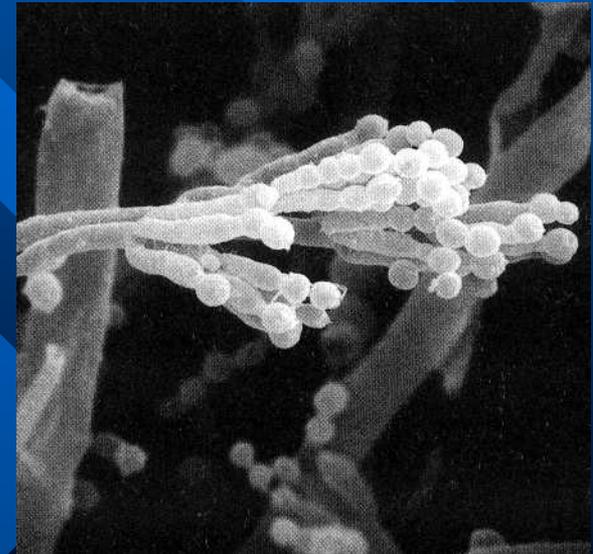
Penicillium roqueforti: utilizzato come starter nei formaggi tipo Gorgonzola, Stilton, Roquefort, Blue. Forma conidi verdi-azzurri. Attivamente proteolitico e lipolitico.

Penicillium camemberti e *Penicillium caseicola*: utilizzati nella produzione di formaggi come Camembert, Brie e simili. Si differenziano perché le colonie del primo tendono a diventare grigio-verde pallido, mentre il secondo rimane bianco.

Rhizopus stolonifer: causa un'alterazione nota come **pelo di gatto** in molti formaggi durante la maturazione, con crescita superficiale di micelio e formazione di sporangiofori, che danno un caratteristico aspetto nero e vellutato.



Rhizopus spp.



Penicillium roqueforti