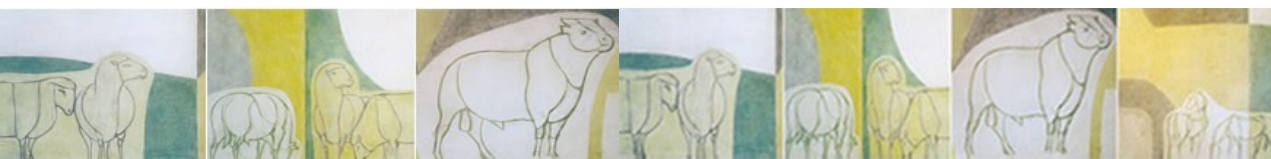


**AGGIORNAMENTO SULLE METODICHE ANALITICHE E ATTIVITA' DI RICERCA DEL CENTRO DI  
REFERENZA NAZIONALE PER LA QUALITA' DEL LATTE E DEI PRODOTTI DERIVATI DEGLI OVINI  
E DEI CAPRINI**

# **Risultati dello studio sulla flora lattica nelle produzioni ovi-caprine**

Nicla Marri, 9 Giugno 2016

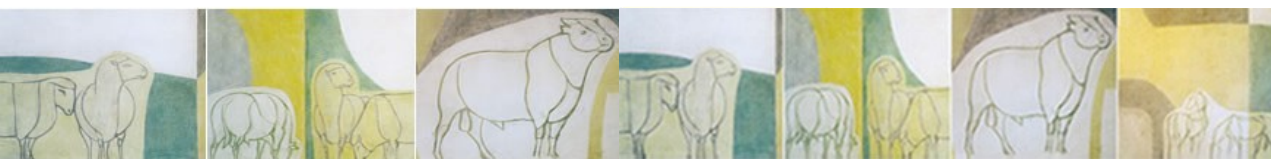


RISULTATI DELLO STUDIO DELLA FLORA LATTICA NELLE PRODUZIONI OVI-CAPRINE

# Introduzione batteri lattici (LAB)

## Cenni biochimici

- Batteri Gram positivi
- Catalasi e ossidasi negativi
- Non mobili, non sporigeni
- Anaerobi o aerotolleranti
- Strettamente fermentativi
- Acido tolleranti



RISULTATI DELLO STUDIO DELLA FLORA LATTICA NELLE PRODUZIONI OVI-CAPRINE

# Introduzione batteri lattici (LAB)

## Famiglie

- Streptococcaceae
- Lactobacillaceae
- Enterococcaceae
- Aerococcaceae
- Leuconostocaceae

## Generi

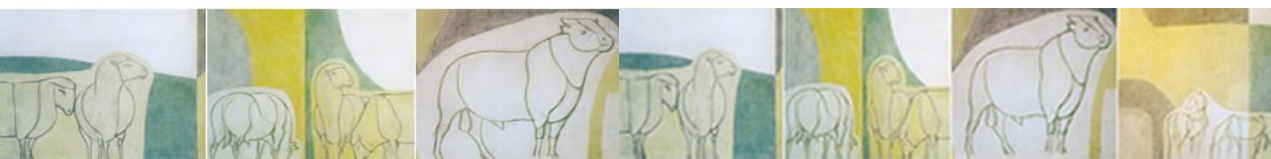
*Streptococcus, Lactococcus*

*Lactobacillus, Pediococcus*

*Enterococcus, Vagococcus*

*Aerococcus*

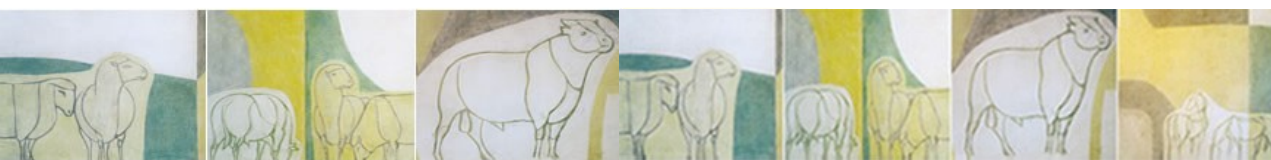
*Leuconostoc, Oenococcus*



## RISULTATI DELLO STUDIO DELLA FLORA LATTICA NELLE PRODUZIONI OVI-CAPRINE

# Introduzione batteri lattici (LAB)

Generi	Morfologia	Fermentazione	Temperatura ottimale	Specie di interesse
<i>Streptococcus</i> <i>Lactococcus</i> <i>Enterococcus</i>	Cocchi	Omofermentanti	45 °C 30°C	<i>S. thermophilus</i> , <i>Lc lactis</i> <i>E. faecium</i> <i>E. faecalis</i>
<i>Lactobacillus</i>	Bastoncelli	Eterofermentanti	30 – 37 °C	<i>Lb kefir</i> <i>Lb brevis</i> <i>Lb fermentum</i> (45°C)
<i>Lactobacillus</i>	Bastoncelli	Omofermentanti	45°C	<i>Lb delbrueckii</i> <i>Lb helveticus</i> <i>Lb acidophilus</i>
<i>Lactobacillus</i>	Bastoncelli	Omofermentanti Eterofermentanti	30 – 37 °C	<i>Lb casei</i> <i>Lb curvatus</i> <i>Lb plantarum</i> <i>Lb sakei</i>
<i>Leuconostoc</i> <i>Oenococcus</i>	Cocchi	Eterofermentanti	30°C	<i>Lc mesenteroides</i> <i>Oenococcus oeni</i>

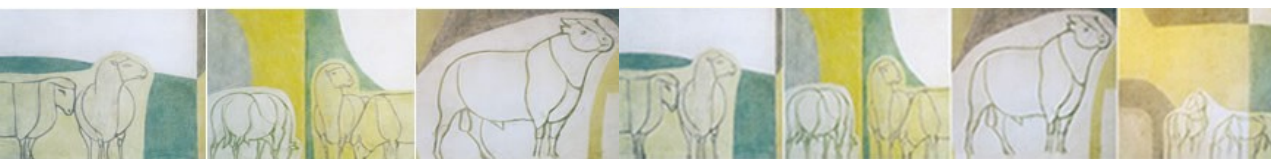


RISULTATI DELLO STUDIO DELLA FLORA LATTICA NELLE PRODUZIONI OVI-CAPRINE

# Introduzione batteri lattici

## Utilizzo dei LAB nella tecnologia casearia

- **Colture starter**
- **Colture secondarie (Non Starter)**
- **Colture probiotiche**



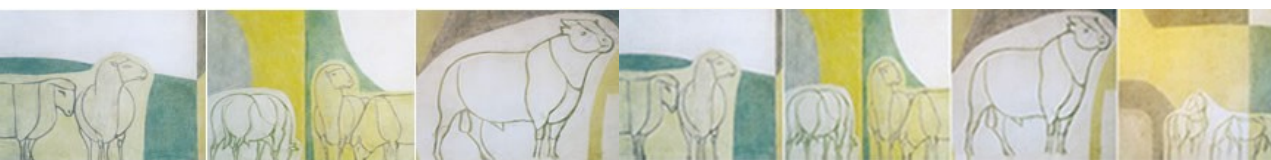
RISULTATI DELLO STUDIO DELLA FLORA LATTICA NELLE PRODUZIONI OVI-CAPRINE

# Introduzione batteri lattici

## Colture starter

- **Composizione batterica differente a seconda della tipologia di formaggio**
- **Colture starter artigianali**

Sieroinnesti termofili	40 – 45 °C	Grana, Provolone
Sieroinnesti mesofili	20 - 30°C	Mozzarella
Lattoinnesti termofili	40 – 45 °C	Crescenza, Asiago, yogurt
Lattoinnesti termofili	20 – 30 °C	Caprini, Pecorini, panna



## RISULTATI DELLO STUDIO DELLA FLORA LATTICA NELLE PRODUZIONI OVI-CAPRINE

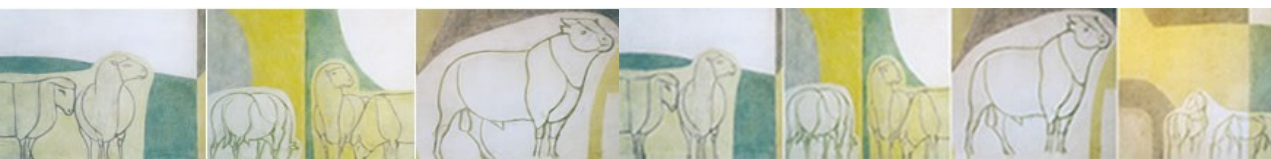
# Introduzione batteri lattici

- **Colture starter industriali**

<i>S. thermophilus</i>	Mozzarella, Crescenza,
<i>S. thermophilus</i> + <i>Lb delbr. bulgaricus</i>	Yogurt, Gorgonzola, Taleggio, Asiago
<i>Lactococcus</i> , <i>Leuconostoc</i>	burro
<i>S. thermophilus</i> + <i>Lb termofili</i>	Provolone, Grana Padano

- **Colture secondarie**

- Aggiunta di batteri lattici NON Starter (NSLAB) al latte di partenza
- *Lb plantarum*, *Lb casei*, *Lb paracasei*, *Lb rhamnosus*, *Lb curvatus*
- Responsabili delle caratteristiche organolettiche del prodotto (texture e sapore dei prodotti caseari)



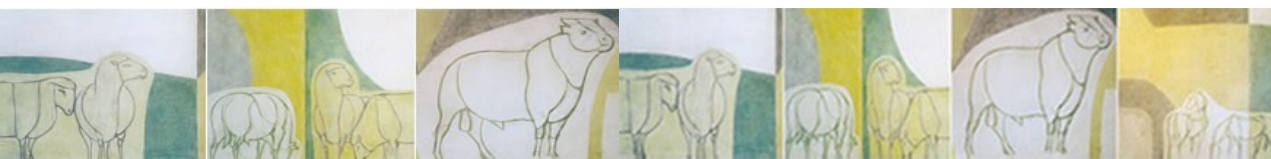


RISULTATI DELLO STUDIO DELLA FLORA LATTICA NELLE PRODUZIONI OVI-CAPRINE

# Introduzione batteri lattici

## Colture probiotiche

- Microrganismi vivi, che ingeriti in un certo numero, esercitano effetti benefici sulla salute dell'ospite (FAO/WHO, 2002. Guidelines for the evaluations of probiotics in Food)
- Dimostrati effetti benefici sull'ospite
- Assenza di patogenicità/tossicità
- Resistenza al transito gastrico
- Capacità colonizzare l'intestino
- Rimanere vivi, vitali ( $10^9$  UFC/100 g) fino alla scadenza
- Gruppo acidophilus: *L. acidophilus*, *L. gasseri*, *L. johnsonii*, *L. crispatus*
- Gruppo casei: *L. casei* (shirota), *L. paracasei*, *L. rhamnosus* (GG)
- Gruppo Enterococcus: *E. faecalis*, *E. faecium*, *Sporolactobacillus inulis*
- Gruppo Bifidobacterium: *B. adolescentis*, *B. longum subsp. infantis*



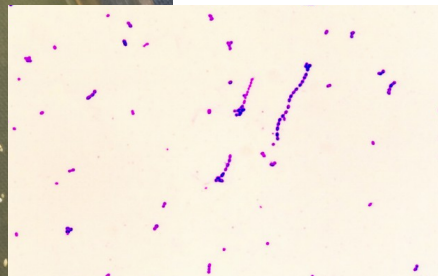
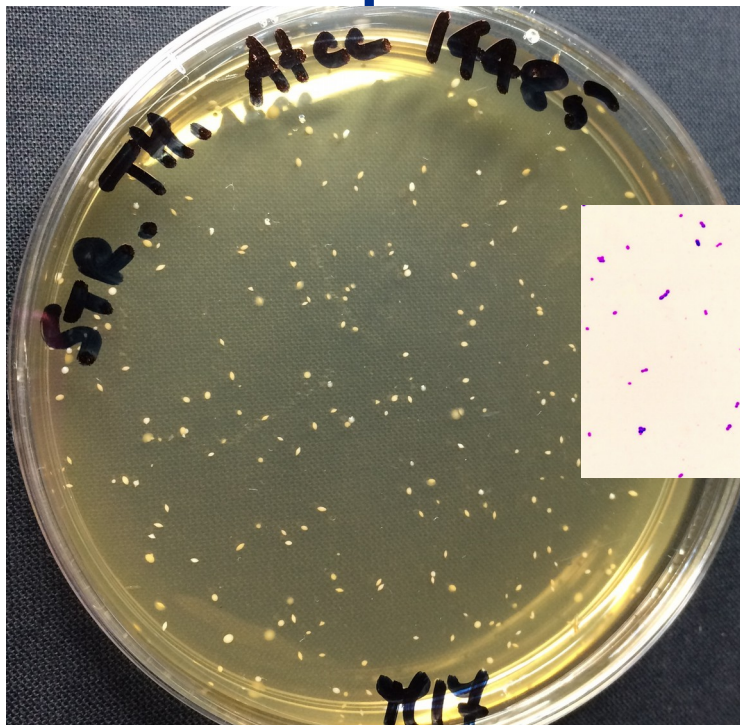


RISULTATI DELLO STUDIO DELLA FLORA LATTICA NELLE PRODUZIONI OVI-CAPRINE

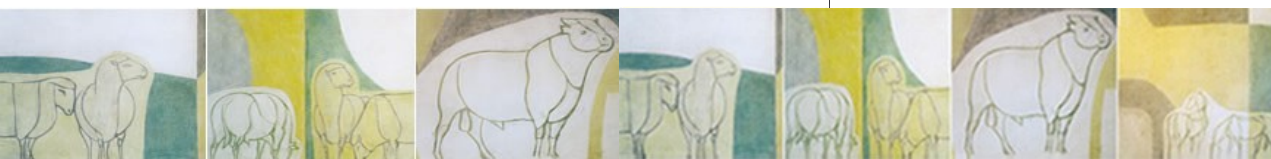
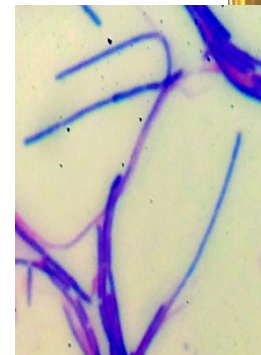
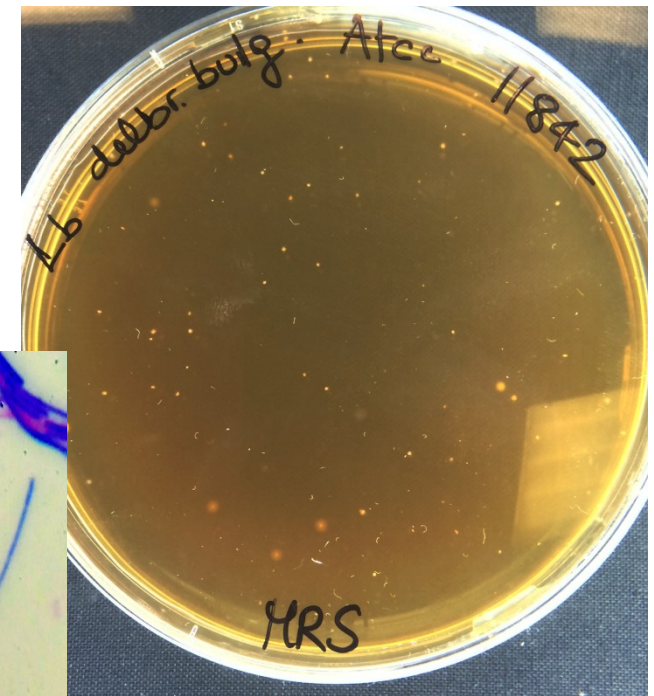
# Introduzione batteri lattici

## Morfologia

### *S. thermophilus*



### *Lb delbr. bulgaricus*

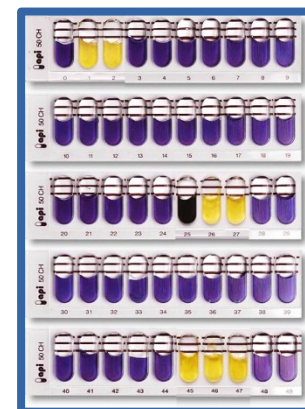
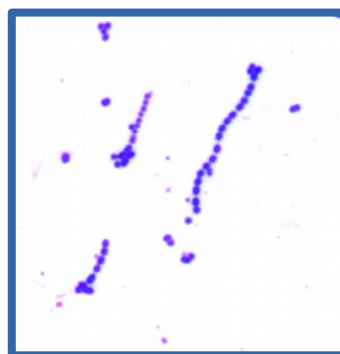


## RISULTATI DELLO STUDIO DELLA FLORA LATTICA NELLE PRODUZIONI OVI-CAPRINE

# Identificazione batteri lattici

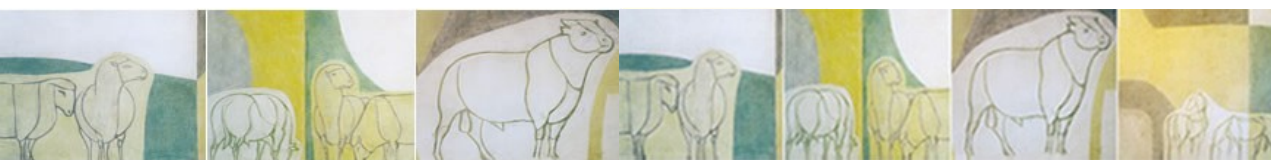
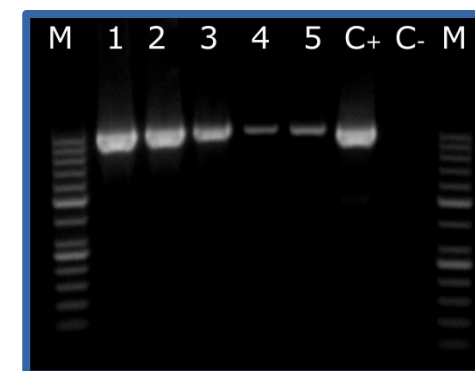
## Metodi fenotipici

- Crescita su terreni selettivi
- Morfologia
- Metodi biochimici miniaturizzati



## Metodi biomolecolari

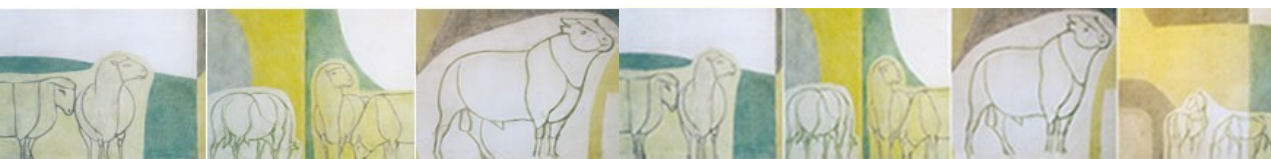
- PCR
- Denaturation Gradient Gel Electrophoresis (DGGE)
- Restriction fragment length polymorphism (RFLP)
- Multilocus sequence typing (MLST)
- Pulsed field gel electrophoresis (PFGE)



## RISULTATI DELLO STUDIO DELLA FLORA LATTICA NELLE PRODUZIONI OVI-CAPRINE

### STUDI SU LAB EFFETTUATI DALLA D.O. CIP

- **Collezione ceppoteca LAB e messa a punto delle metodiche biomolecolari**
- **Yogurt prodotto nella filiera corta: studio preliminare sulla variazione di parametri microbiologici e chimico-fisici durante la shelf life**
- **Yogurt ovino: studio delle caratteristiche microbiologiche, chimico-fisiche e organolettiche di un prodotto da filiera corta in relazione alla shelf life**
- **Studio sugli effetti della somministrazione di foglie di olive in pecore in lattazione sulla qualità del latte e dei formaggi**
- **Analisi di caratteristiche microbiologiche, chimico-fisiche e sensoriali di yogurt e latte fermentato di origine caprina**

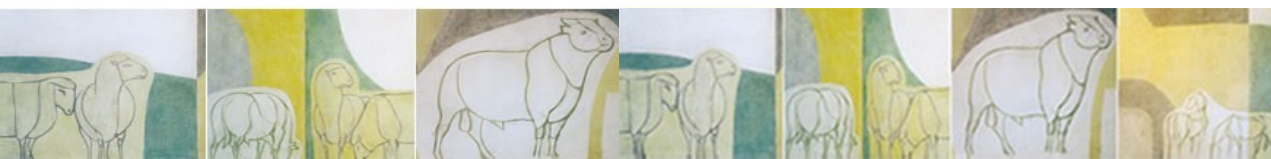


## RISULTATI DELLO STUDIO DELLA FLORA LATTICA NELLE PRODUZIONI OVI-CAPRINE

### METODICHE BIOMOLECOLARI

Identificazione tramite PCR end point delle seguenti specie di LAB:

- *Lc lactis subsp. lactis e subsp. cremoris*
- *Lb delbrueckii subsp. bulgaricus*
- *S. thermophilus*
- *Lb helveticus*
- *Lb plantarum*
- *E. faecalis, E. faecium*
- *Lb paracasei*
- Collaborazione con ISS, Dip. Sanità pubblica veterinaria e sicurezza alimentare per controlli positivi





## RISULTATI DELLO STUDIO DELLA FLORA LATTICA NELLE PRODUZIONI OVI-CAPRINE

### METODICHE BIOMOLECOLARI



XIII Congresso Nazionale S.I.Di.L.V. - Trani, 12-14 ottobre 2011

#### DETERMINAZIONE RAPIDA CON METODO BIOMOLECOLARE DI BATTERI LATTICI DA LATTE E DERIVATI - RISULTATI PRELIMINARI -

Marri N., Carfora V., Patriarca D., Pietrini P., Filippetti F., Giangolini G., Amati S.  
Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Regioni Lazio e Toscana  
marri@izs.it

#### INTRODUZIONE

I batteri lattici rappresentano un gruppo eterogeneo di microrganismi in grado di produrre acido lattico attraverso vie metaboliche omo ed eterofermentative. Tali microrganismi possono essere naturalmente presenti o aggiunti (colture starter) ad un'ampia varietà di prodotti fermentati. I processi enzimatici e di acidificazione che accompagnano la loro crescita conferiscono particolari aromi e caratteristiche, inoltre tali batteri svolgono un importante ruolo nel controllo della crescita di microrganismi indesiderati.

Negli ultimi anni lo sviluppo di tecniche biomolecolari ha aperto nuove prospettive per la caratterizzazione dei batteri lattici, consentendo di distinguere specie microbiche fenotipicamente simili e di individuare ceppi batterici appartenenti alla stessa specie. Scopo del presente lavoro è lo sviluppo di un metodo biomolecolare, in via di validazione, per l'identificazione rapida di alcune specie e sottospecie di batteri lattici presenti nel latte e in derivati del latte di origine bovina, bufalina e ovi-caprina.



#### MATERIALI E METODI

Da gennaio a luglio 2011 sono stati analizzati 50 campioni provenienti da aziende localizzate nella regione Lazio di cui 11 campioni di latte crudo, 4 di latte termizzato e diverse tipologie di prodotti lattiero-caseari: 5 cagliate, 17 formaggi (freschi, stagionati e a pasta filata), 2 ricotte, 7 yogurt bianchi e 4 yogurt alla frutta; dei 50 campioni 11 sono di origine bovina, 16 bufalina, 20 ovi-caprina e 3 di tipologia mista. I campioni conservati a 4°C sono stati analizzati entro 24 ore dal loro arrivo. Da tutte le matrici sono state allestite diluizioni 1:10 in acqua peptonata e sono state effettuate delle subcolture trasferendone 1 ml in 9 ml di M17 broth e MRS broth (De Man, Rogosa and Sharpe broth) utilizzati rispettivamente per la ricerca di lattococchi e lattobacilli. I brodi incubati rispettivamente a 37°C in aerobiosi e a 37°C in anaerobiosi per 24-48 ore sono stati sottoposti all'estrazione del DNA genomico utilizzando il kit di estrazione Dneasy Blood & Tissue Kit (Qiagen).

Il DNA così ottenuto è stato sottoposto ad analisi in PCR, utilizzando i primer e le condizioni di reazione riportati in letteratura per l'identificazione di *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*, *Streptococcus thermophilus*, *Enterococcus faecalis*, *Lactobacillus plantarum* (Figura 1). *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, *Lactobacillus helveticus* e, solo per i campioni di origine bufalina, *Lactobacillus paracasei*. Per ogni reazione di PCR è stato utilizzato come controllo positivo il DNA appartenente a ceppi batterici di riferimento certificati (*Lactococcus lactis* subsp. *lactis* ATCC 11454, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212) e il DNA di ceppi batterici appartenenti ad una collezione dell'Istituto Superiore di Sanità (ISS). Gli amplificati, ottenuti tramite l'utilizzo di GeneAmp® PCR System 9700 (Applied Biosystems), sono stati esaminati tramite corsa elettroforetica su gel di agarosio all'1,2% contenente Gel Red™ in tampone TBE-acetato-EDTA 1X e visualizzati con transilluminatore.

Tabella 1 - Batteri lattici identificati tramite PCR

Matrice	Specie animale	Batteri lattici identificati tramite PCR
Latte crudo	bovina	<i>Lb. plantarum</i> ; <i>Lc. lactis</i> subsp. <i>lactis</i> ; <i>E. faecalis</i> ; <i>S. thermophilus</i>
	bufalina	<i>Lb. paracasei</i> ; <i>Lb. delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i> ; <i>Lb. helveticus</i> ; <i>Lb. plantarum</i> ; <i>Lc. lactis</i> subsp. <i>lactis</i> ; <i>E. faecalis</i> ; <i>S. thermophilus</i>
Latte termizzato	bufalina	<i>Lb. paracasei</i> ; <i>Lb. delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i> ; <i>Lb. helveticus</i> ; <i>Lb. plantarum</i> ; <i>Lc. lactis</i> subsp. <i>lactis</i> ; <i>E. faecalis</i> ; <i>S. thermophilus</i>
Cagliata	bufalina	<i>Lb. paracasei</i> ; <i>Lb. delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i> ; <i>Lb. helveticus</i> ; <i>Lb. plantarum</i> ; <i>Lc. lactis</i> subsp. <i>lactis</i> ; <i>E. faecalis</i> ; <i>S. thermophilus</i>
	bovina	<i>Lb. paracasei</i> ; <i>Lb. delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i> ; <i>Lb. helveticus</i> ; <i>Lb. plantarum</i> ; <i>Lc. lactis</i> subsp. <i>lactis</i> ; <i>E. faecalis</i> ; <i>S. thermophilus</i>
Formaggio	bovina	<i>Lb. delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i> ; <i>Lc. lactis</i> subsp. <i>lactis</i> ; <i>S. thermophilus</i>
	ovina	<i>Lb. plantarum</i> ; <i>Lb. delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i> ; <i>E. faecalis</i> ; <i>Lc. lactis</i> subsp. <i>lactis</i>
	caprina	<i>Lc. lactis</i> subsp. <i>lactis</i> ; <i>Lb. plantarum</i> ; <i>S. thermophilus</i> ; <i>E. faecalis</i>
	mista	<i>Lb. plantarum</i> ; <i>Lc. lactis</i> subsp. <i>lactis</i> ; <i>S. thermophilus</i>

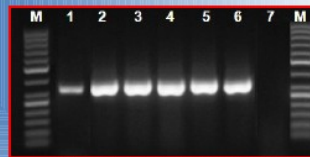


Figura 1 - PCR per l'identificazione di *Lb. plantarum*. Lanes 1-2 isolati da formaggio ovino, Lanes 3-4 isolati da cagliata bufalina, Lane 5 isolato da yogurt caprino, Lane 6 DNA di *Lb. plantarum* (colonna ISS), Lane 7 controllo negativo, M, GeneRuler™ 50 bp DNA Ladder (Fermentas).

#### RISULTATI E DISCUSSIONE

I batteri lattici identificati tramite PCR, correlati alla tipologia di matrice e alla specie animale di provenienza, sono riportati in Tabella 1. I dati preliminari mostrano come questo metodo biomolecolare (in corso di validazione) applicato alle diverse tipologie di matrici lattiero-casearie possa risultare, anche efficace per l'identificazione delle specie e delle sottospecie di batteri lattici considerati. Tale metodica sembra consentire un'efficace identificazione della flora lattica in esame in tempi brevi e con maggiore facilità rispetto ai tradizionali metodi di

sopportata

Matrice	Specie animale	Batteri lattici identificati tramite PCR
Latte crudo	bovina	<i>Lb. plantarum</i> ; <i>Lc. lactis</i> subsp. <i>lactis</i> ; <i>E. faecalis</i> ; <i>S. thermophilus</i>
	bufalina	<i>Lb. paracasei</i> ; <i>Lb. delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i> ; <i>Lb. helveticus</i> ; <i>Lb. plantarum</i> ; <i>Lc. lactis</i> subsp. <i>lactis</i> ; <i>E. faecalis</i>
Latte termizzato	bufalina	<i>Lb. paracasei</i> ; <i>Lb. delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i> ; <i>Lb. helveticus</i> ; <i>Lb. plantarum</i> ; <i>Lc. lactis</i> subsp. <i>lactis</i> ; <i>E. faecalis</i> ; <i>S. thermophilus</i>
Cagliata	bufalina	<i>Lb. paracasei</i> ; <i>Lb. delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i> ; <i>Lb. helveticus</i> ; <i>Lb. plantarum</i> ; <i>Lc. lactis</i> subsp. <i>lactis</i> ; <i>S. thermophilus</i> ; <i>E. faecalis</i>
	bufalina	<i>Lb. paracasei</i> ; <i>Lb. helveticus</i> ; <i>Lb. plantarum</i> ; <i>Lc. lactis</i> subsp. <i>lactis</i> ; <i>Str. thermophilus</i> ; <i>E. faecalis</i>
Formaggio	bovina	<i>Lb. delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i> ; <i>Lc. Lactis</i> subsp. <i>lactis</i> ; <i>S. thermophilus</i>
	ovina	<i>Lb. plantarum</i> ; <i>Lb. delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i> ; <i>E. faecalis</i> ; <i>Lc. lactis</i> subsp. <i>lactis</i>
	caprina	<i>Lc. lactis</i> subsp. <i>lactis</i> ; <i>Lb. plantarum</i> ; <i>S. thermophilus</i> ; <i>E. faecalis</i>
	mista	<i>Lb. plantarum</i> ; <i>Lc. lactis</i> subsp. <i>lactis</i> ; <i>S. thermophilus</i>
Ricotta	caprina	<i>Lb. delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i> ; <i>Lc. lactis</i> subsp. <i>lactis</i> ; <i>Lb. plantarum</i> ; <i>S. thermophilus</i>
Yogurt	bovina	<i>Lb. delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i> ; <i>S. thermophilus</i>
	caprina	<i>Lb. delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i> ; <i>Lb. plantarum</i> ; <i>S. thermophilus</i>

## RISULTATI DELLO STUDIO DELLA FLORA LATTICA NELLE PRODUZIONI OVI-CAPRINE

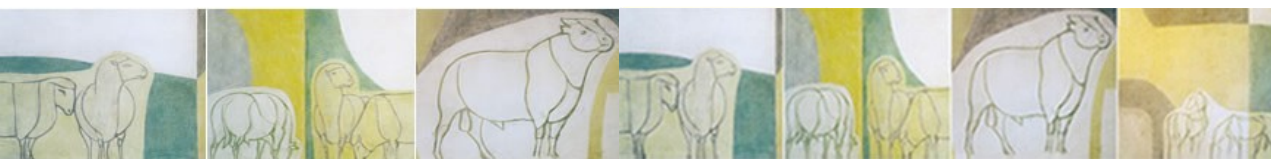
### **Yogurt prodotto nella filiera corta: studio preliminare sulla variazione di parametri microbiologici e chimico-fisici durante la shelf life**

#### **Azienda 1:**

- yogurt vaccino (bianco e frutta), yogurt caprino (bianco e frutta)
- T 0: 3 giorni, T 1: 10 giorni
- Enumerazione di : enterobatteri, lieviti e muffe, microrganismi specifici dello yogurt
- Identificazione dei LAB con metodi miniaturizzati e PCR

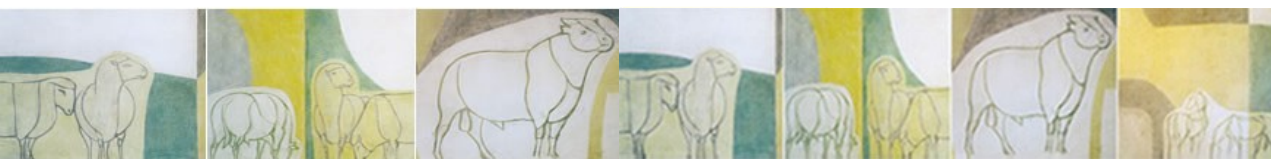
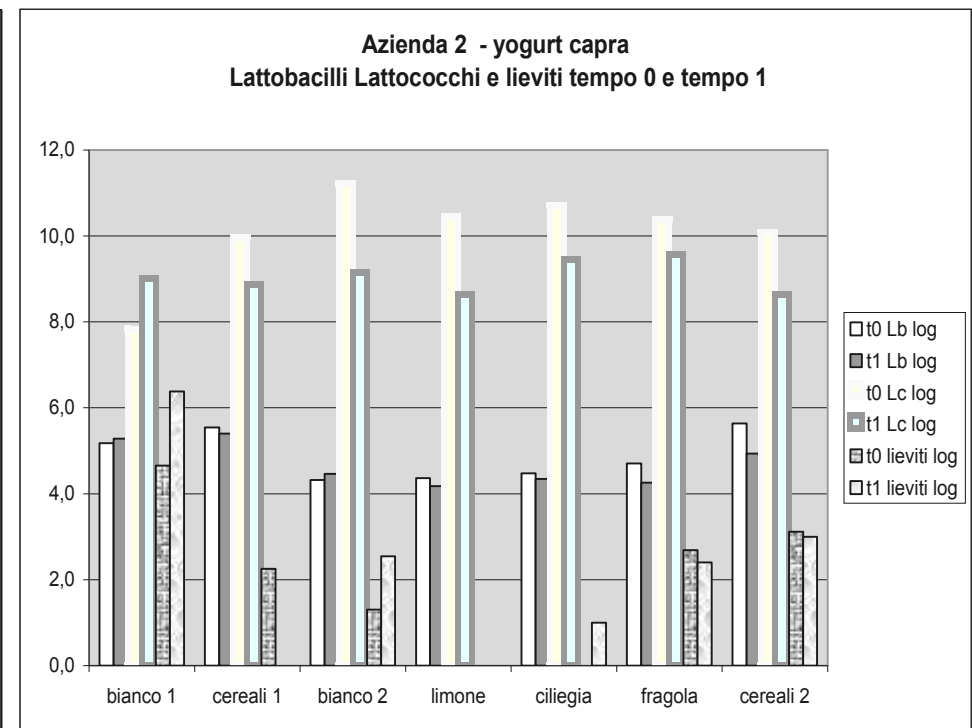
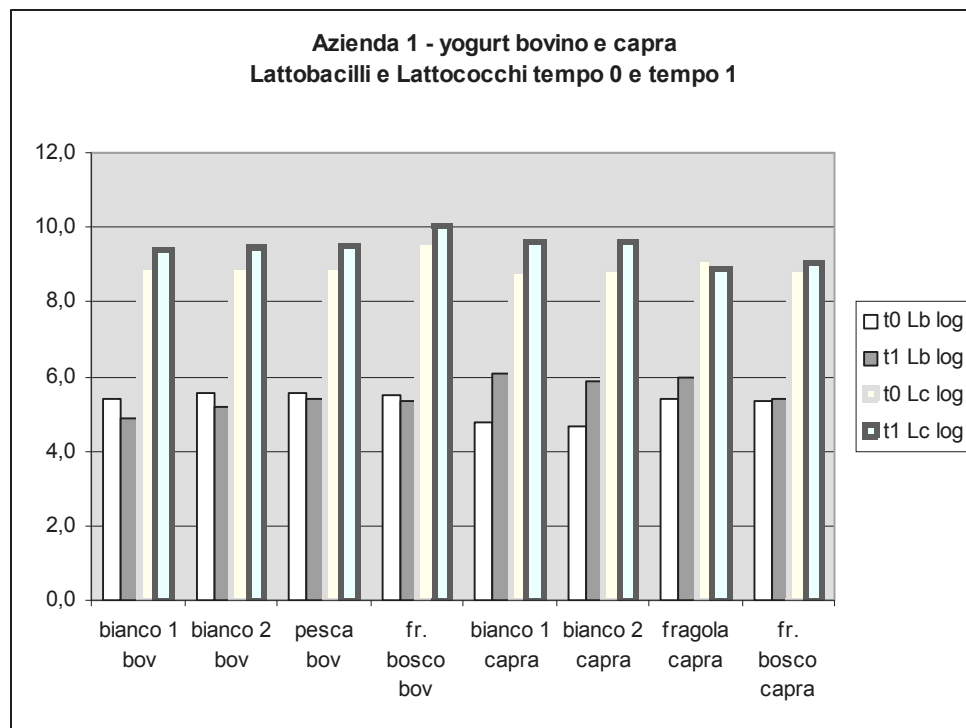
#### **Azienda 2:**

- yogurt caprino (bianco, frutta e cereali)
- T 0: 15 giorni, T 1: 30 giorni
- Enumerazione di : enterobatteri, lieviti e muffe, microrganismi specifici dello yogurt
- Identificazione dei LAB con metodi miniaturizzati e PCR
- Determinazione del pH



## RISULTATI DELLO STUDIO DELLA FLORA LATTICA NELLE PRODUZIONI OVI-CAPRINE

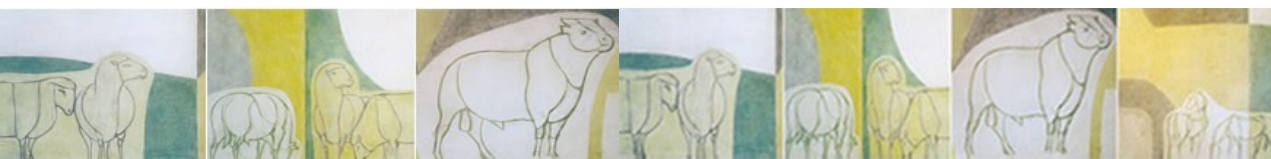
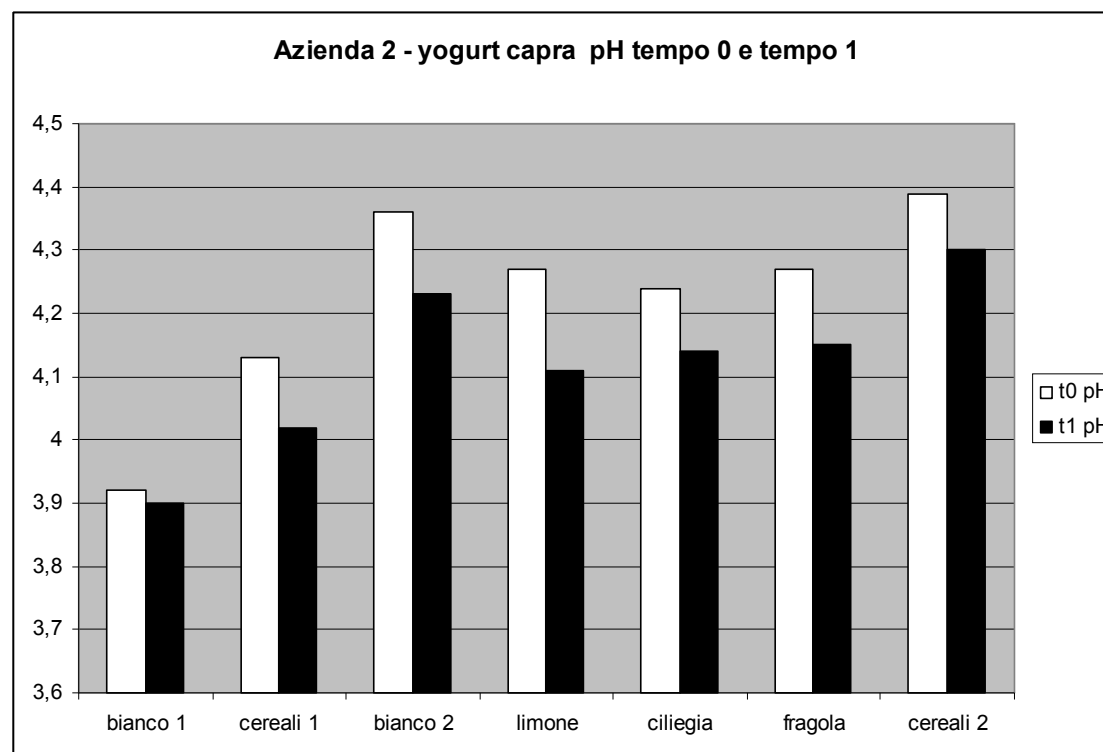
### Yogurt prodotto nella filiera corta: studio preliminare sulla variazione di parametri microbiologici e chimico-fisici durante la shelf life





## RISULTATI DELLO STUDIO DELLA FLORA LATTICA NELLE PRODUZIONI OVI-CAPRINE

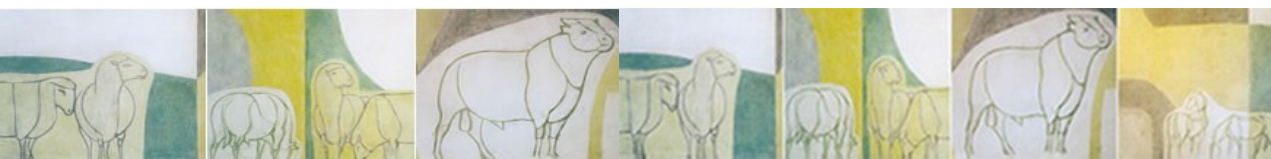
### Yogurt prodotto nella filiera corta: studio preliminare sulla variazione di parametri microbiologici e chimico-fisici durante la shelf life



## RISULTATI DELLO STUDIO DELLA FLORA LATTICA NELLE PRODUZIONI OVI-CAPRINE

### Yogurt prodotto nella filiera corta: studio preliminare sulla variazione di parametri microbiologici e chimico-fisici durante la shelf life

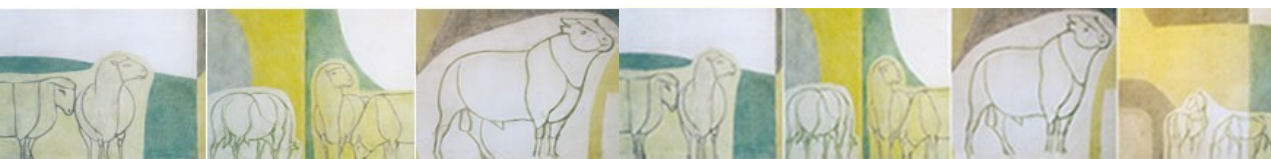
- Identificazione fenotipica e genotipica dei LAB:
- Risultati completamente sovrapponibili per *Streptococcus thermophilus*
- Risultati completamente sovrapponibili per *Lactobacillus delbrueckii bulgaricus* solo per i ceppi isolati dai campioni della Azienda 1
- Isolati provenienti dai campioni della Azienda 2 si è confermata una sola identificazione su 14 (7%)
- Collaborazione con D.O. Biotecnologie, Lab di Analisi biomolecolare e genetica Sequenziamento degli isolati riferibili a *Lb delbrueckii bulgaricus*
- I risultati ottenuti confermano gli esiti negativi derivanti da PCR: gli isolati sono stati identificati come *Lactobacillus helveticus*



## RISULTATI DELLO STUDIO DELLA FLORA LATTICA NELLE PRODUZIONI OVI-CAPRINE

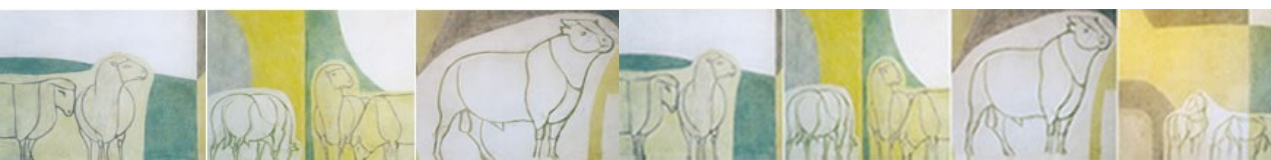
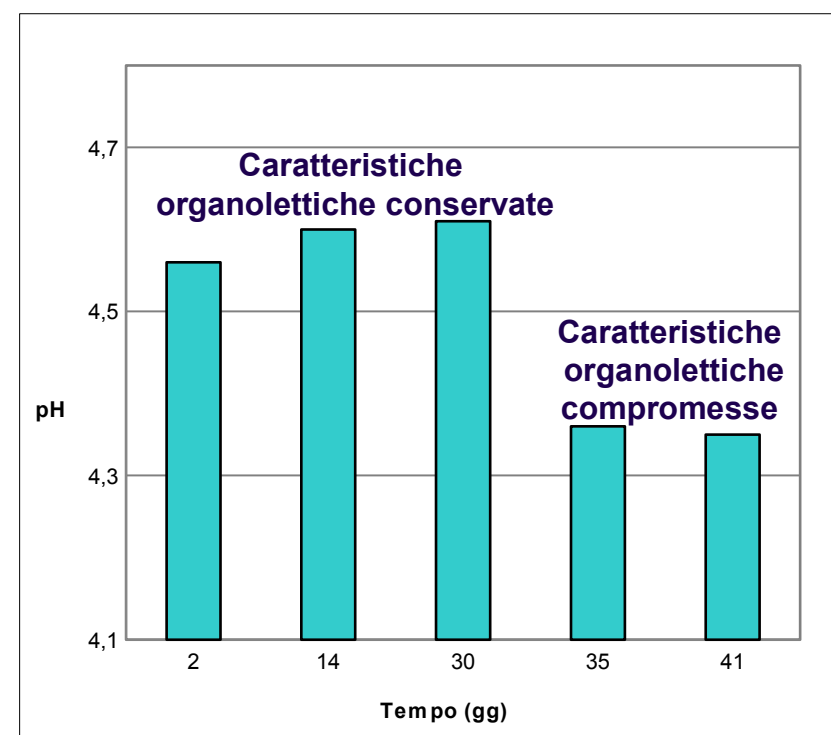
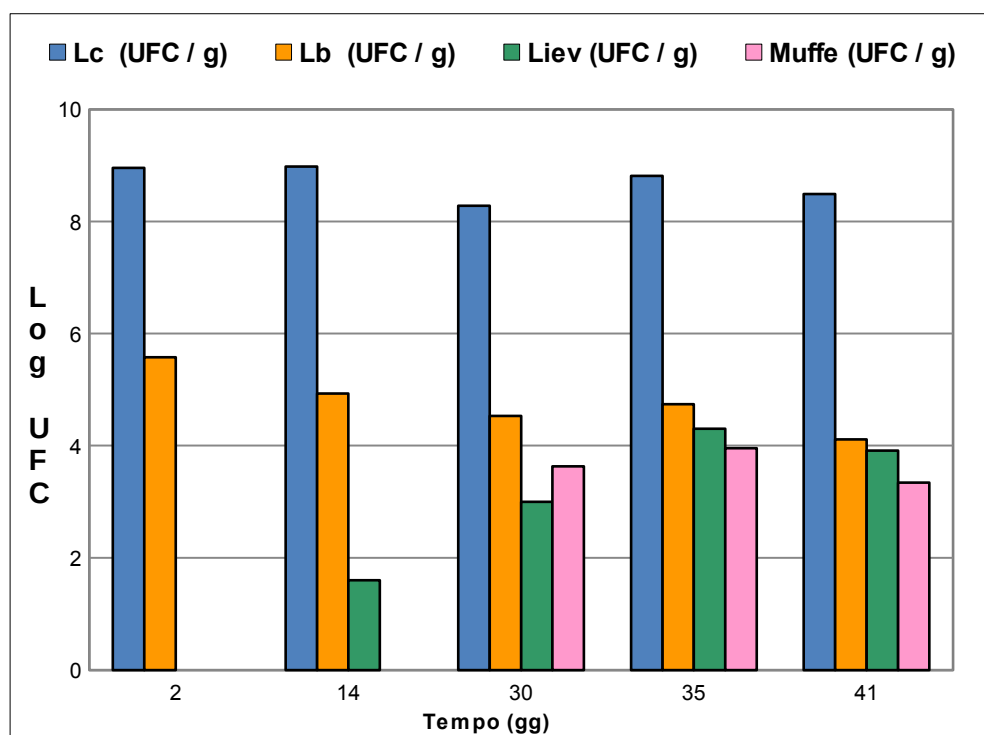
### **Yogurt ovino: studio delle caratteristiche microbiologiche, chimico-fisiche e organolettiche di un prodotto da filiera corta in relazione alla shelf life**

- **Analisi latte ovino e yogurt bianco**
- **Shelf life dichiarata: 30 giorni**
- **Campionamento yogurt dopo: 2,14,30,35 e 41 giorni dalla produzione**
- **In latte e yogurt: Enumerazione di enterobatteri, lieviti e muffe**
- **Determinazione del pH**
- **Solo negli yogurt: Enumerazione dei microrganismi specifici dello yogurt**
- **Identificazione dei LAB con metodi miniaturizzati e PCR**
- **Analisi organolettica degli yogurt**



## RISULTATI DELLO STUDIO DELLA FLORA LATTICA NELLE PRODUZIONI OVI-CAPRINE

### Yogurt ovino: studio delle caratteristiche microbiologiche, chimico-fisiche e organolettiche di un prodotto da filiera corta in relazione alla shelf life

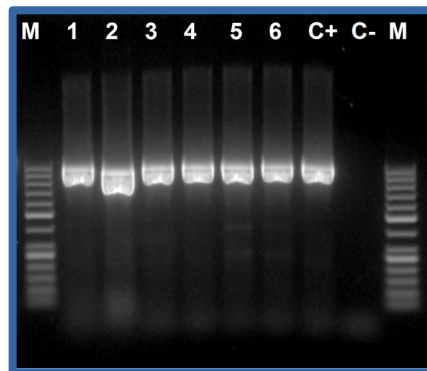


## RISULTATI DELLO STUDIO DELLA FLORA LATTICA NELLE PRODUZIONI OVI-CAPRINE

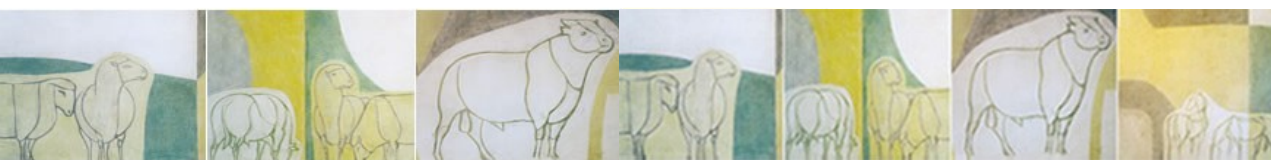
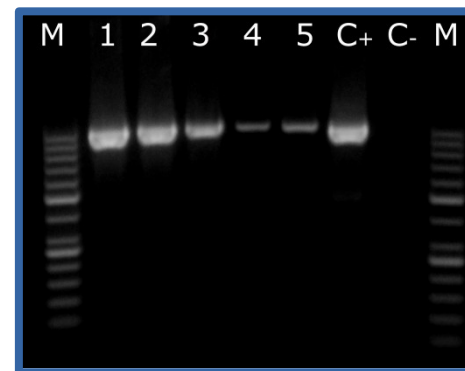
### Yogurt ovino: studio delle caratteristiche microbiologiche, chimico-fisiche e organolettiche di un prodotto da filiera corta in relazione alla shelf life

- Presenza di microrganismi indesiderati (lieviti) già a 14 giorni dalla data di produzione
- Presenza di muffe alla data di scadenza
- Caratteristiche chimico-fisiche e qualità organolettica conservate fino al termine della shelf life
- Piena concordanza dell'identificazione di *Lactobacillus delbrueckii bulgaricus* e *Streptococcus thermophilus* tramite metodo biochimico e biomolecolare

PCR: *S. Thermophilus*



PCR: *Lb delbr. bulgaricus*





## RISULTATI DELLO STUDIO DELLA FLORA LATTICA NELLE PRODUZIONI OVI-CAPRINE

### Studio sugli effetti della somministrazione di foglie di olive in pecore in lattazione sulla qualità del latte e dei formaggi

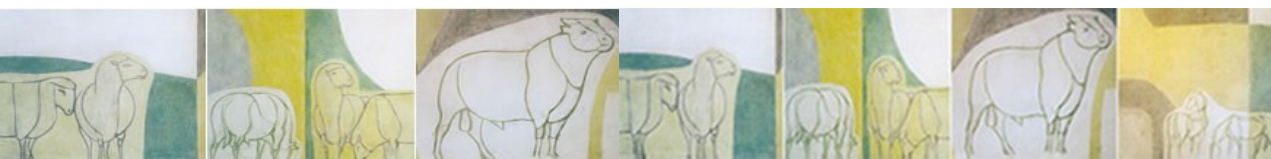
- Valutare gli effetti della somministrazione di foglie di olivo e olive in azienda ovina
- Allevamento ovino costituito da 90 animali:
  - alimentati con sistema tradizionale (pascolo + mangimi e fieni) per 15 gg      gruppo N
  - alimentati con sistema alternativo (pascolo + residui di potatura olive) per 15 gg      gruppo O



## RISULTATI DELLO STUDIO DELLA FLORA LATTICA NELLE PRODUZIONI OVI-CAPRINE

### Studio sugli effetti della somministrazione di foglie di olive in pecore in lattazione sulla qualità del latte e dei formaggi

- Valutare gli effetti della somministrazione di foglie di olivo e olive in azienda ovina
- Allevamento ovino costituito da 90 animali:
  - alimentati con sistema tradizionale (pascolo + mangimi e fieni) per 15 gg                      gruppo N
  - alimentati con sistema alternativo (pascolo + residui di potatura olive) per 15 gg              gruppo O
- Campionamento: latte e formaggi dopo 1, 15, 30 e 60 giorni di stagionatura
- Enumerazione di Enterobatteri, E.coli, Stafilococchi coagulasi positivi, Pseudomonas spp, Clostridi solf.rid., Lieviti, Muffe, Lattobacilli e Lattococchi
- Determinazione di Grasso, Proteine, Solidi tot, Umidità sui formaggi
- Identificazione fenotipica e genotipica di LAB
- Saggio dell'attività antimicrobica di LAB nei confronti di microrganismi patogeni



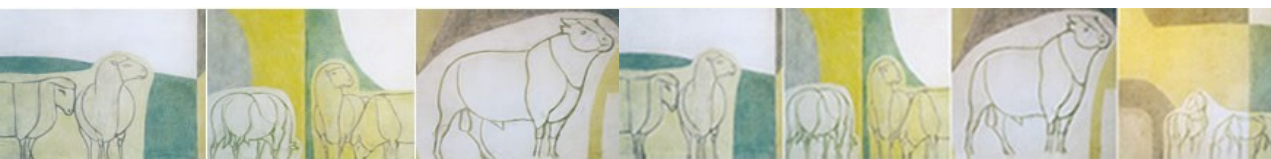


## RISULTATI DELLO STUDIO DELLA FLORA LATTICA NELLE PRODUZIONI OVI-CAPRINE

### Studio sugli effetti della somministrazione di foglie di olive in pecore in lattazione sulla qualità del latte e dei formaggi

<i>Latte</i>	<i>SC+</i>	<i>E.coli</i>	<i>Enterob.</i>	<i>Lieviti</i>	<i>Muffe</i>	<i>Lattobac.</i>	<i>Lattococchi</i>
<i>Latte N</i>	3.0	1.4	3.7	2.8	0.7	3.5	7.9
<i>Latte O</i>	2.6	1.5	4.6	4.3	2.5	5.6	6.0

**Log<sub>10</sub> UFC / ml**

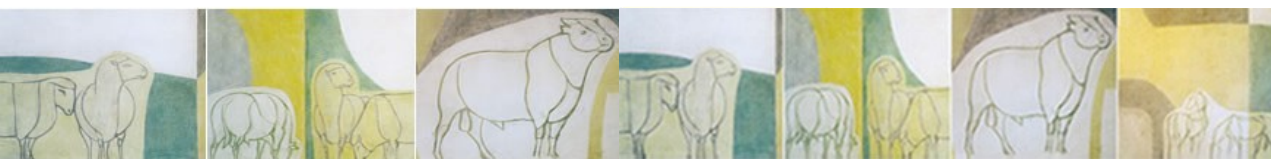


## RISULTATI DELLO STUDIO DELLA FLORA LATTICA NELLE PRODUZIONI OVI-CAPRINE

### Studio sugli effetti della somministrazione di foglie di olive in pecore in lattazione sulla qualità del latte e dei formaggi

<i>Formaggio N</i>	<i>SC+</i>	<i>E.coli</i>	<i>Enterob.</i>	<i>Lieviti</i>	<i>Muffe</i>	<i>Lattobac.</i>	<i>Lattococchi</i>
T0	4,3	3,4	5,8	3,6	3,7	5,9	9,8
T15	5,7	6,5	6,9	4,7	1,3	7,9	8,3
T30	6,0	6,5	6,9	4,8	1,6	8,7	8,7
T60	3,4	6,1	7,1	4,2	1,3	7,8	8,5
<i>Formaggio O</i>	<i>SC+</i>	<i>E.coli</i>	<i>Enterob.</i>	<i>Lieviti</i>	<i>Muffe</i>	<i>Lattobac.</i>	<i>Lattococchi</i>
T0	5,7	4,5	7,0	4,5	1,6	7,4	7,8
T15	3,5	3,7	4,8	5,9	0,0	8,7	9,4
T30	0,0	2,5	3,0	4,6	0,0	7,8	7,6
T60	0,0	1,5	1,9	5,8	0,0	8,1	7,8

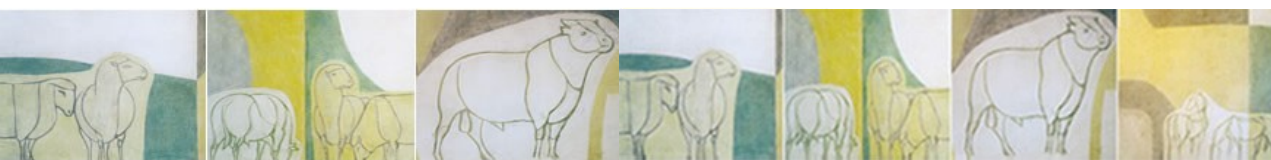
Log<sub>10</sub> UFC / g



## RISULTATI DELLO STUDIO DELLA FLORA LATTICA NELLE PRODUZIONI OVI-CAPRINE

### Studio sugli effetti della somministrazione di foglie di olive in pecore in lattazione sulla qualità del latte e dei formaggi

	<i>Grasso SS %</i>		<i>Proteine %</i>		<i>Solidi tot. %</i>		<i>Umidità %</i>	
<i>Tempo</i>	<i>FN</i>	<i>FO</i>	<i>FN</i>	<i>FO</i>	<i>FN</i>	<i>FO</i>	<i>FN</i>	<i>FO</i>
<i>T0</i>	49,7	51,4	40,5	38,2	48,5	41,8	51,5	58,2
<i>T15</i>	51,7	52,6	41,9	38,3	58,6	53,8	41,4	46,2
<i>T30</i>	51,4	52,9	41,5	37,9	69,1	56,4	30,9	43,6
<i>T60</i>	52,0	53,2	41,5	39,7	65,4	61,0	34,6	38,9



## RISULTATI DELLO STUDIO DELLA FLORA LATTICA NELLE PRODUZIONI OVI-CAPRINE

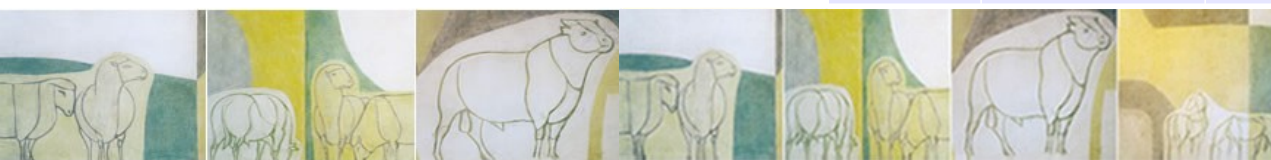
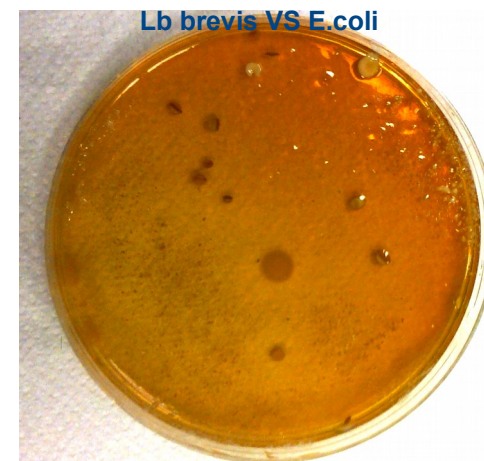
### Studio sugli effetti della somministrazione di foglie di olive in pecore in lattazione sulla qualità del latte e dei formaggi

<i>Specie microbiche testate</i>	INIBIZIONE DEBOLE ( < 2 mm)	INIBIZIONE MEDIA ( 2 - 5 mm)	INIBIZIONE FORTE ( > 5 mm)
<i>Lb. brevis</i> "cdc" vs <i>E. coli</i> ATCC 25922	/	X	/
<i>Lb. paracasei</i> "cdc" vs <i>L. monocytogenes</i> ATCC 19117	/	X	/
<i>Lb. pentosus</i> "cdc" vs <i>E.coli</i> ATCC 25922	X	/	/
<i>Lb. acidophilus</i> "cdc" vs <i>Ps. fluoresc.</i> ATCC 13525	/	/	X
<i>Lb. fermentum</i> "cdc" vs <i>Ps. aeruginosa</i> ATCC 27853	/	/	X
<i>Lc lactis lactis</i> "cdc" vs <i>S. aureus</i> ATCC 25923	/	/	X

*Lb fermentum* VS *Ps. aeruginosa*



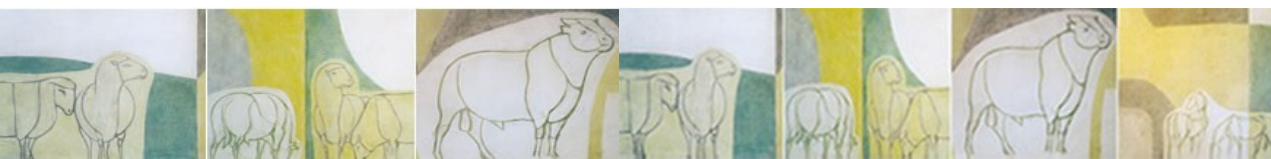
*Lb brevis* VS *E.coli*



## RISULTATI DELLO STUDIO DELLA FLORA LATTICA NELLE PRODUZIONI OVI-CAPRINE

### Studio sugli effetti della somministrazione di foglie di olive in pecore in lattazione sulla qualità del latte e dei formaggi

- Risultati microbiologici delle 2 tipologie di latte hanno mostrato una qualità igienico-sanitaria comparabile
- SC+, E.coli, Enterobatteri e Muffe più elevati nel formaggio N
- Flora lattica comparabile nei 2 formaggi
- Lieviti comparabili nei 2 formaggi, ma aumentano con la stagionatura
- Confronto tra i 2 formaggi evidenzia un maggior contenuto in grasso nel formaggio O, mentre risulta inferiore il contenuto in proteine totali rispetto al formaggio N
- LAB isolati da latte e formaggi mostrano attività antimicrobica “in vitro” nei confronti dei batteri patogeni esaminati

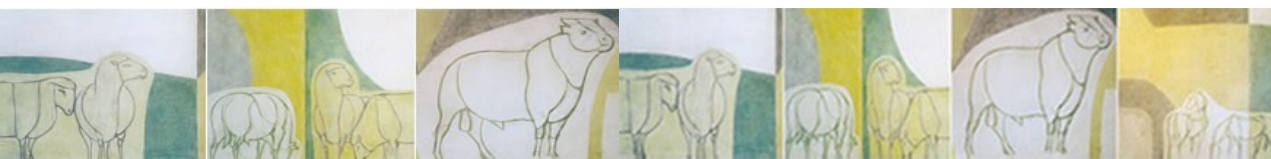




## RISULTATI DELLO STUDIO DELLA FLORA LATTICA NELLE PRODUZIONI OVI-CAPRINE

### Analisi di caratteristiche microbiologiche, chimico-fisiche e sensoriali di yogurt e latte fermentato di origine caprina

- Allestimento di yogurt e latte fermentato a partire da latte UHT caprino
- Yogurt: aggiunta di *Streptococcus thermophilus* e *Lactobacillus delbrueckii bulgaricus* al latte UHT di capra
- Latte fermentato: aggiunta di *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus delbrueckii bulgaricus* e *Leuconostoc lactis* al latte UHT di capra
- Analisi delle caratteristiche microbiologiche, chimico-fisiche e sensoriali degli yogurt dopo 0, 7, 14, 21 e 28 giorni dalla data di produzione
- Allestimento tre repliche per ogni campionamento
- Enumerazione dei microrganismi specifici dello yogurt
- Determinazione tenore in grasso, proteine, umidità, residuo secco magro e pH
- Analisi sensoriale: collaborazione con Univ. La Tuscia, 8 giudici addestrati

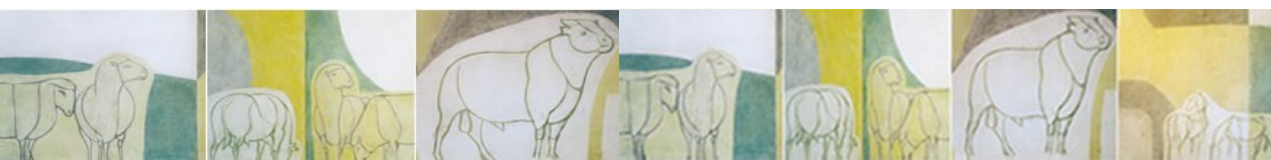


## RISULTATI DELLO STUDIO DELLA FLORA LATTICA NELLE PRODUZIONI OVI-CAPRINE

### Analisi di caratteristiche microbiologiche, chimico-fisiche e sensoriali di yogurt e latte fermentato di origine caprina

	pH	RSM %	Umidità %	Grasso %	Proteine %
<b>Yogurt</b>	4,33	7,77	88,58	3,65	3,73
<b>Latte fermentato</b>	4,47	7,67	88,68	3,64	3,63
<b>p</b>	< 0,001				< 0,01

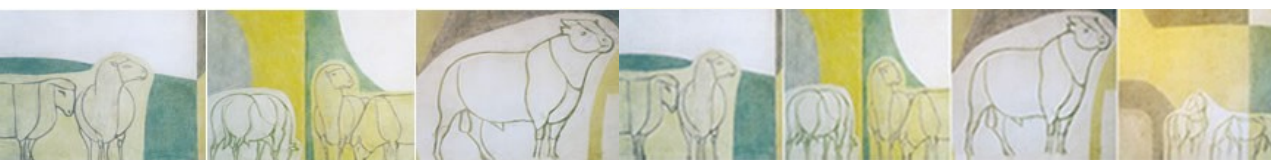
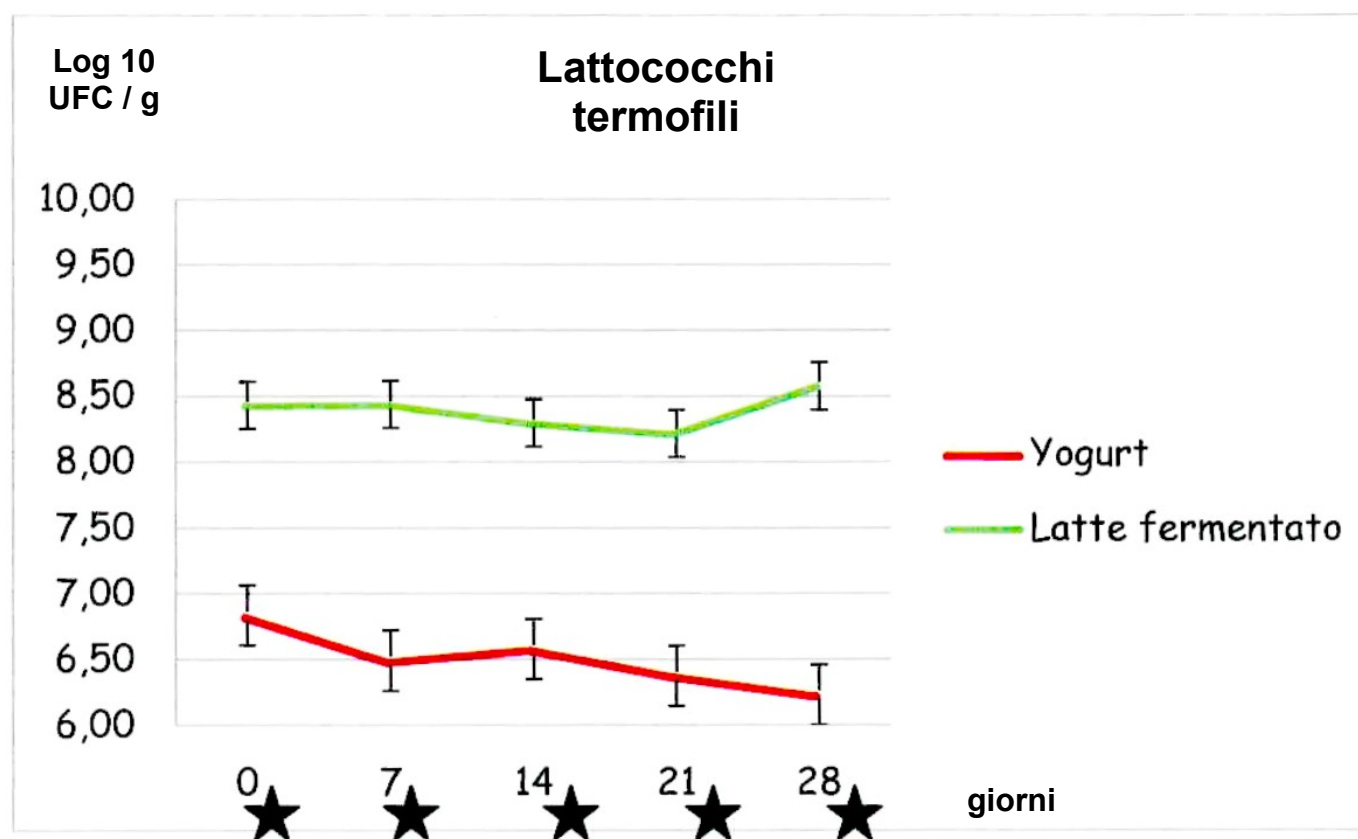
	Lattococchi termofili (Log 10 UFC / g)	Lattobacilli (Log 10 UFC / g)
<b>Yogurt</b>	6,98	7,33
<b>Latte fermentato</b>	8,63	7,85
<b>p</b>	<0,01	





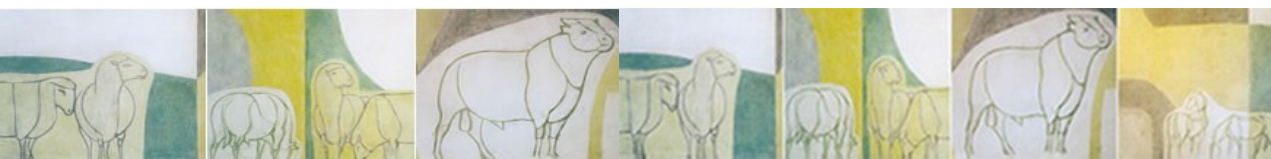
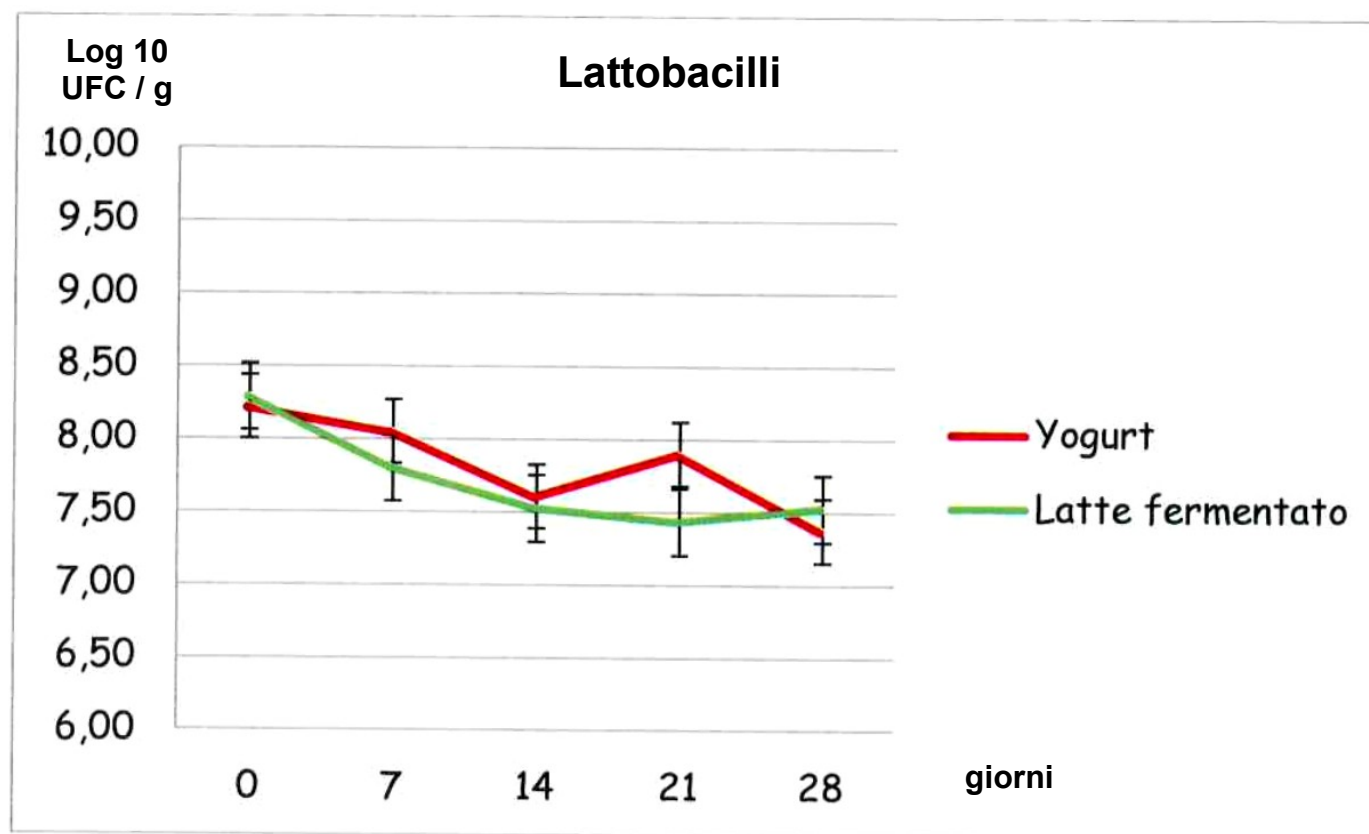
## RISULTATI DELLO STUDIO DELLA FLORA LATTICA NELLE PRODUZIONI OVI-CAPRINE

### Analisi di caratteristiche microbiologiche, chimico-fisiche e sensoriali di yogurt e latte fermentato di origine caprina



## RISULTATI DELLO STUDIO DELLA FLORA LATTICA NELLE PRODUZIONI OVI-CAPRINE

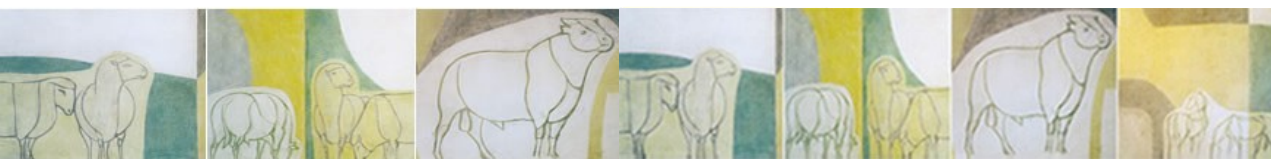
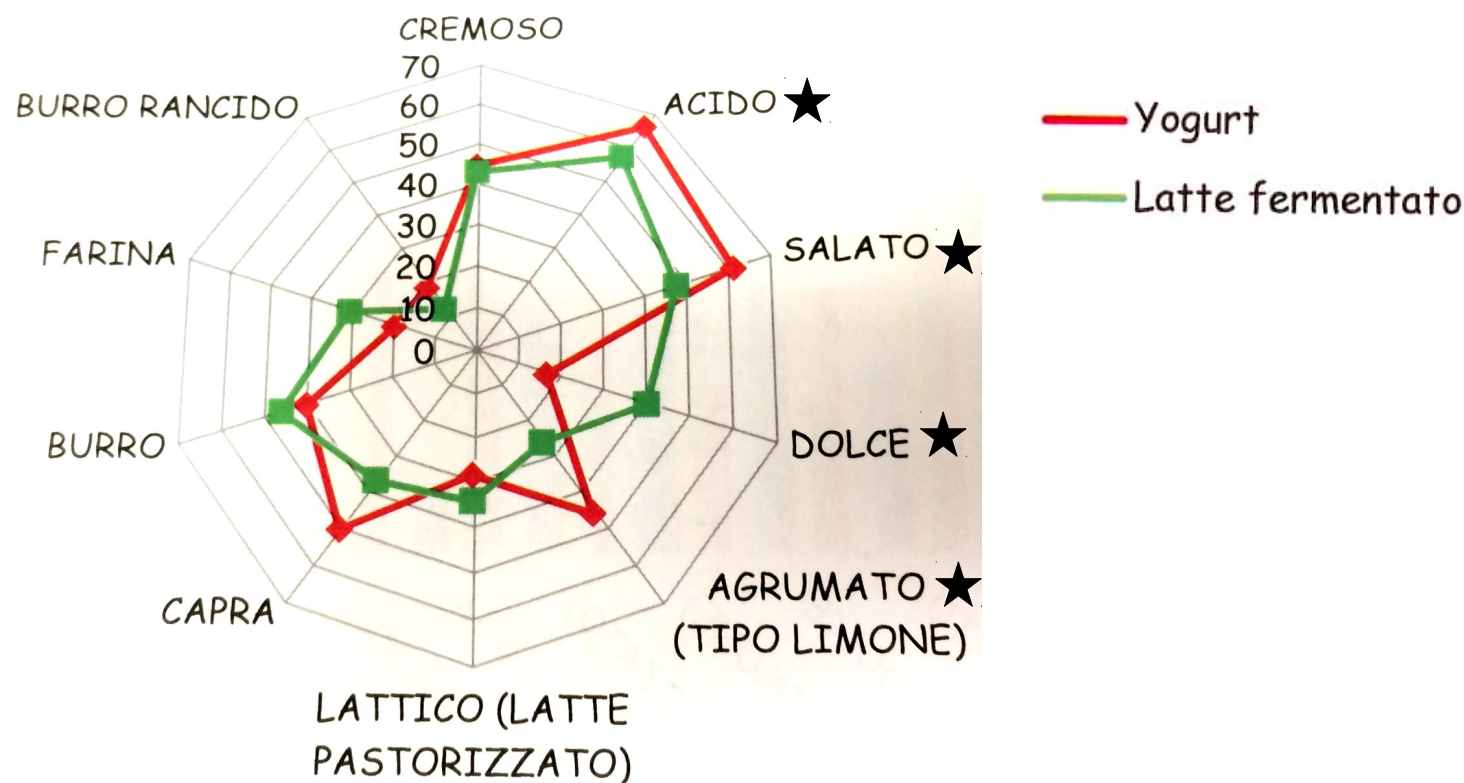
### Analisi di caratteristiche microbiologiche, chimico-fisiche e sensoriali di yogurt e latte fermentato di origine caprina



## RISULTATI DELLO STUDIO DELLA FLORA LATTICA NELLE PRODUZIONI OVI-CAPRINE

### Analisi di caratteristiche microbiologiche, chimico-fisiche e sensoriali di yogurt e latte fermentato di origine caprina

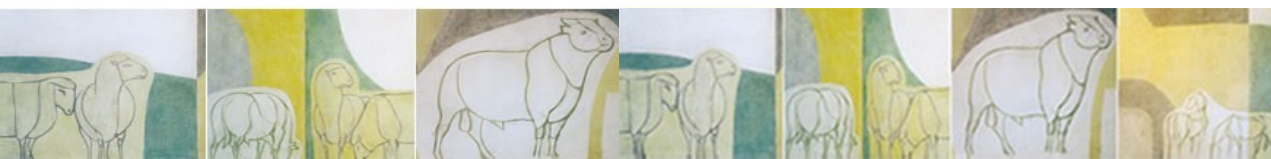
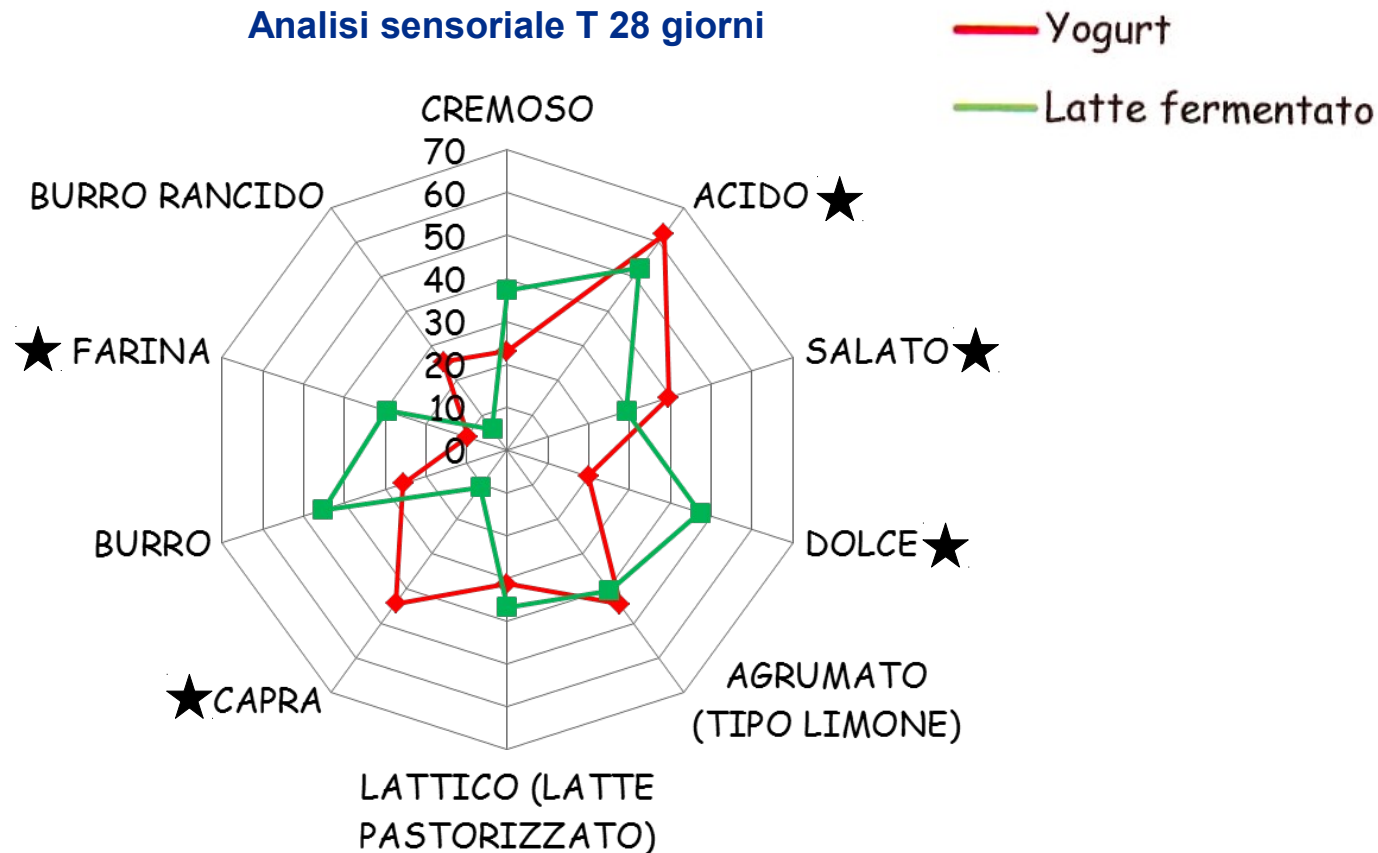
#### Analisi sensoriale T 0 giorni



## RISULTATI DELLO STUDIO DELLA FLORA LATTICA NELLE PRODUZIONI OVI-CAPRINE

# Analisi di caratteristiche microbiologiche, chimico-fisiche e sensoriali di yogurt e latte fermentato di origine caprina

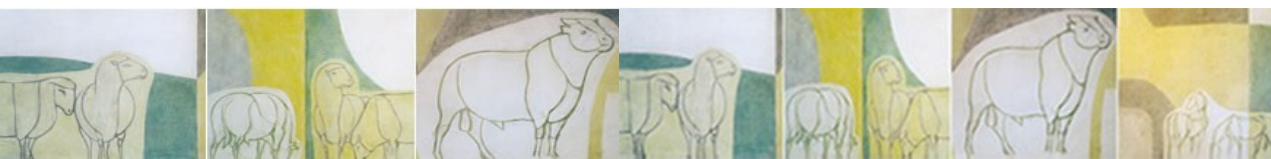
Analisi sensoriale T 28 giorni



## RISULTATI DELLO STUDIO DELLA FLORA LATTICA NELLE PRODUZIONI OVI-CAPRINE

# CONCLUSIONI

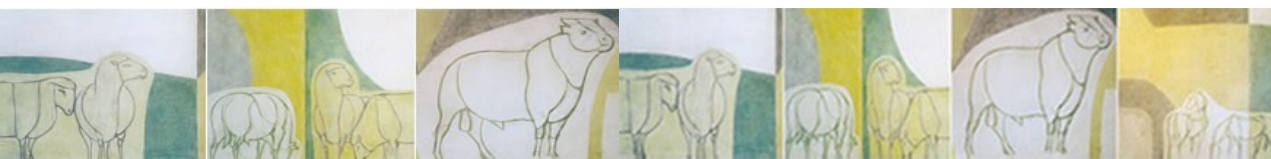
- **Monitoraggio della variabilità della flora lattica nelle matrici casearie**
- **Verifica dei risultati ottenuti tramite metodi biochimici e molecolari**
- **Analizzare le interazioni tra flora lattica e microrganismi patogeni**





## RISULTATI DELLO STUDIO DELLA FLORA LATTICA NELLE PRODUZIONI OVI-CAPRINE

**Un ringraziamento particolare al personale del laboratorio latte**



**RISULTATI DELLO STUDIO DELLA FLORA LATTICA NELLE PRODUZIONI OVI-CAPRINE**

**GRAZIE PER L'ATTENZIONE**

