A.I.T.e.L.

LATTE E DERIVATI: RICERCA,

INNOVAZIONE E VALORIZZAZIONE





Microbiota delle scalere coinvolto nella colorazione arancione-rossa del formaggio Fontina: investigazione attraverso 454-pyrosequencing







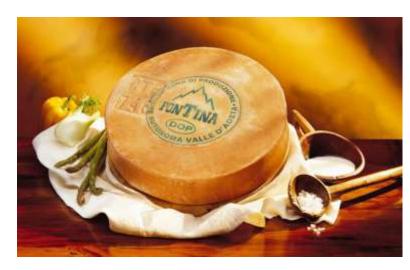


#### **Fontina**

Latte crudo intero da singola mungitura

Inoculo fermenti autoctoni e aggiunta caglio-

10<sup>5</sup> to 10<sup>6</sup> Log UFC/ ml



Maturazione (almeno 80 giorni)

Classificazione e marchiatura da parte del Consorzio Produttori e Tutela della DOP Fontina

Coagulazione (T 34 – 36 °C) Rottura cagliata Spinatura su fuoco (48°C) Spinatura fuori fuoco Giacenza (almeno 10 min) Estrazione cagliata Messa in forma e pressatura Salatura Trasferimento in magazzino di stagionatura



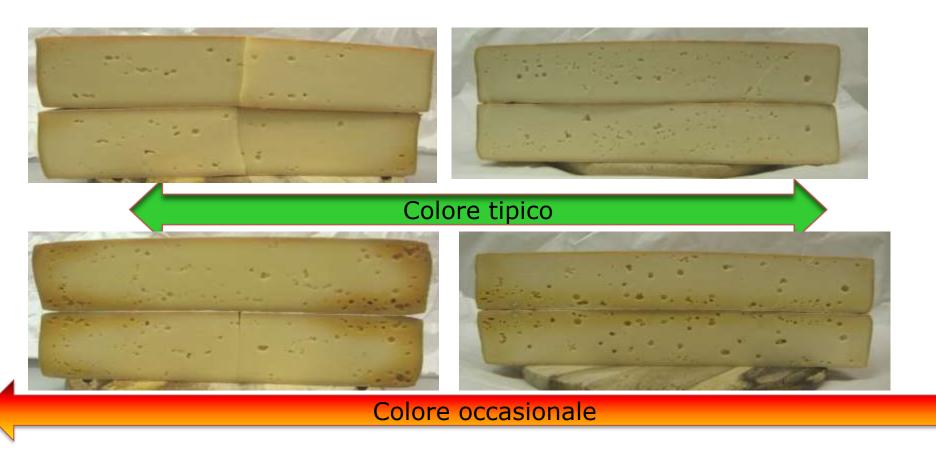
## Introduzione









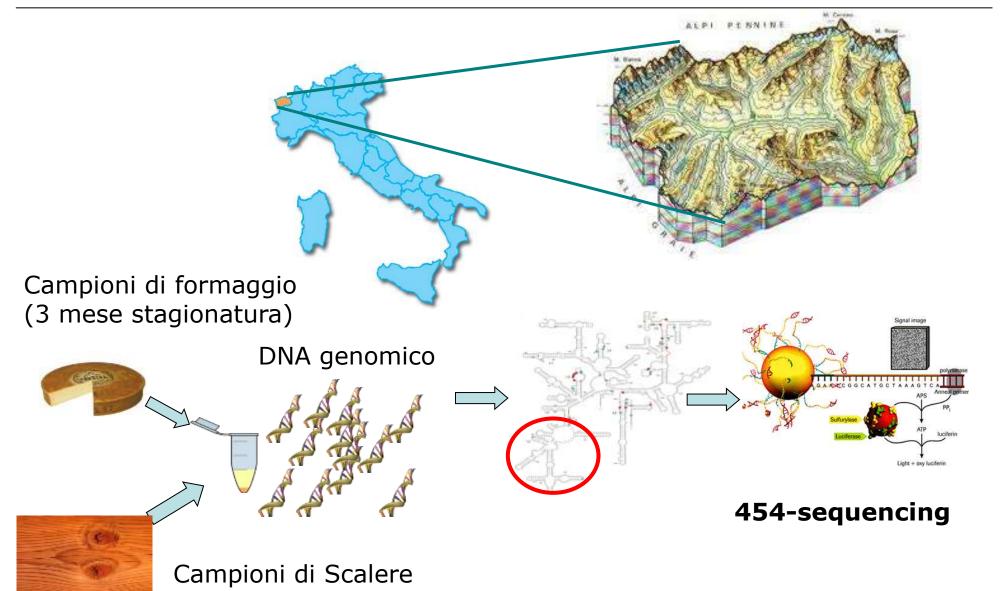


Il progetto è nato per rispondere alle domande:

Può la colorazione anomala della fontina essere dovuta a una particolare popolazione microbica?

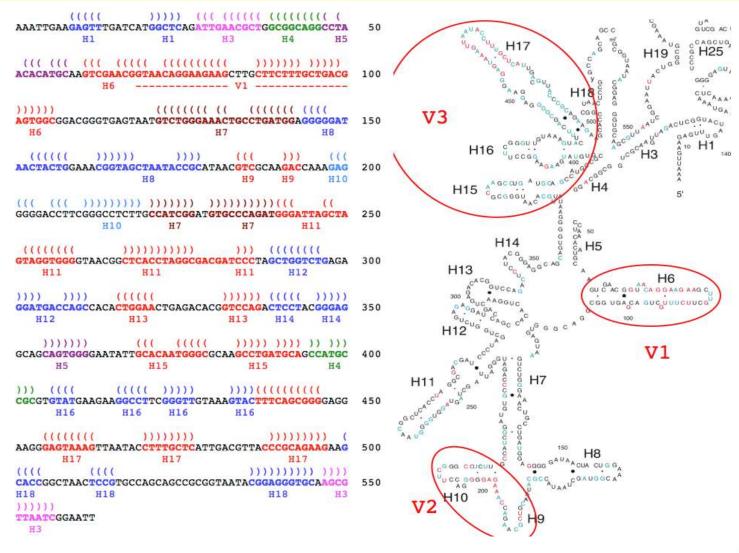
Se sì, è più un problema ambientale di magazzino (scalere) o di altra origine a monte della caseificazione?







#### E' stata amplificata la regione V1-V3 del 16S con primer F8-R533





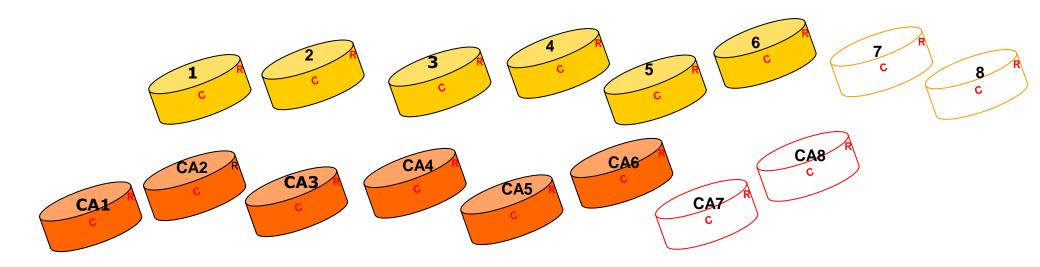
### Piano sperimentale:

#### Sono state campionate:

8 forme di Fontina a colorazione regolare

8 forme di Fontina a colorazione anomala (CA) Arancione Rossa Tutte le forme sono state campionate sia nel centro che nel sottocrosta

Totale = 32 campioni di formaggio







Inoltre sono stati presi 16 campioni ambientali corrispondenti alle 16 scalere su cui erano locati i formaggi a stagionare quindi

- 8 campioni da scalere che hanno dato formaggi a colorazione regolare
- 8 campioni da scalere che hanno dato formaggi a colorazione anomala CA

<u>14 plate</u> 12 campioni ambientali: Batteri

<u>¼ plate</u> 12 campioni ambientali: Lieviti

<u>½ plate</u>: 24 campioni formaggio fontina:

Batteri



# Risultati *Pyroseqeuncing*

#### 570,247 reads

Read = sequenza

#### Analisi del DataSet tramite QIIME

Filtro DataSet

267,754 reads (formaggio)

123,214 reads (scalere)

#### Raggruppamento reads in OTUs

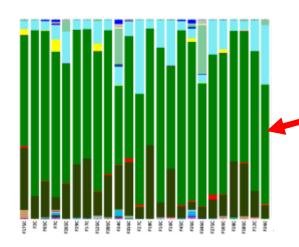
(OTU è un gruppo di reads con sequenza omologa almeno al 97%)

5,946 OTUs (formaggio)

2,784 OTUs (scalere)



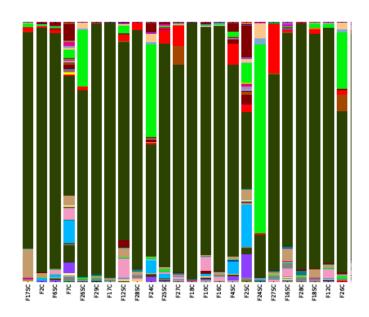
# Risultati Formaggio



Starter: streptococchi e lattococchi

La presenza dello starter (verde) copre le popolazioni subdominanti e non permette di fare ulteriori considerazioni

Togliendo lo starter si nota comunque una dominanza dei *Firmicutes* 

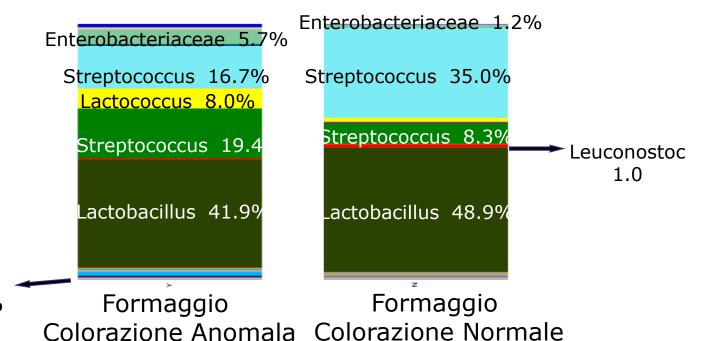


Leuconostoc spp.

Lactobacillus



#### Risultati Formaggio



**Bacteroides 1.4%** 

Chitinophagaceae Aequorivita

Actinobacteria 0.8%

Microbacterium Mycobacterium Propionibacterium Brevibacterium

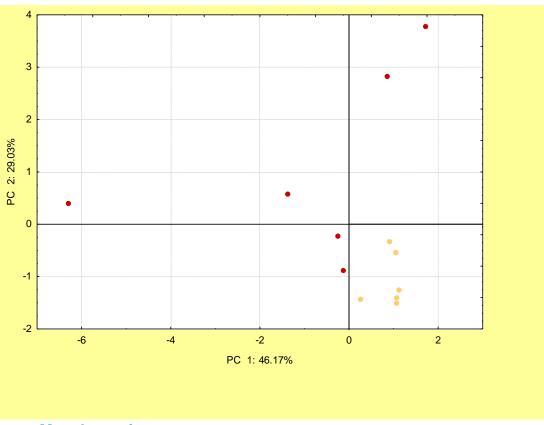
Proteobacteria 0.7%

Pseudomonas Escherichia Halomonas



# Risultati Formaggio

- Formaggi Colorazione Anomala
- Formaggi Colorazione Normale

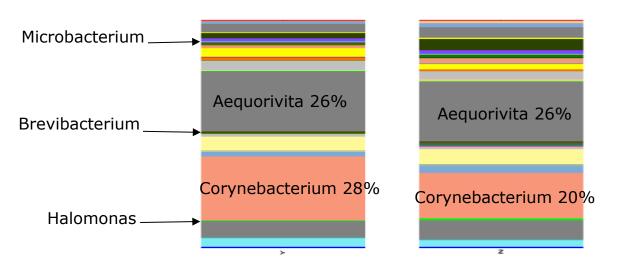


Brevibacterium Corynebacterium Microbacterium Aequorivita Halomonas

Mycobacterium Propionibacterium Chitinophaga Escherichia Pseudomonas



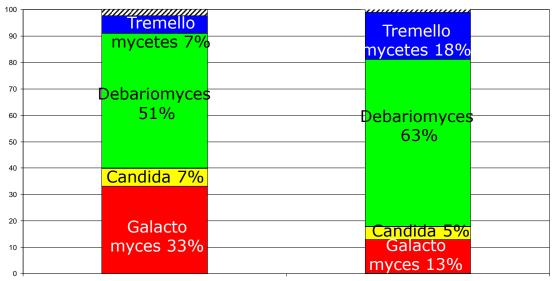
#### Risultati Scalere



Popolazione **batterica** 

**Scalere Colorazione Anomala** Colorazione Normale

**Scalere** 



Popolazione dei **lieviti** 

#### Conclusioni

La popolazione microbica della Fontina è dominata a 3 mesi di stagionatura dalle specie dello starter aggiunto e in particolare *Sc. thermophilus* e *Lc. lactis* (75% delle sequenze)

Dall'analisi della composizione batterica del **formaggio** dominante (starter) e sub dominante non si possono trovare differenze significative tra centro e sottocrosta

La popolazione batterica sub-dominante del **formaggio** era composta da *Actinobacteria, Bacteroides* e *Proteobacteria* 

E' stata evidenziata la presenza dei generi *Corynebacterium*, *Brevibacterium*, *Microbacterium* sia nei **formaggi con colorazione anomala** che sulle relative **scalere** di stagionatura

Le **scalere** che davano colorazioni anomale presentavano alte percentuali di *Galactomyces* (33% contro il 13% presente sulle scalere "normali") e minori di *Debariomyces* (51% contro 63%) e *Tremellomycetes* (7% contro 18%)

E' in corso di valutazione sempre tramite 454-pyrosequencing il cambiamento del microbiota sulle scalere prima e dopo lavaggio con acqua calda o con ozono

Luca Vernetti Rita Pramotton Simona Zenato Andrea Barmaz

Elena Franciosi Ilaria Carafa Kieran Tuohy





# Grazie per la vostra attenzione!

... "cheeeese"