



# Batteri, muffe e lieviti: attori della fermentazione dei salami crudi

CORSO DI AGGIORNAMENTO SPECIALISTICO SULLE MATERIE PRIME  
CAGLIARI  
6-7 OTTOBRE 2018

Dott.ssa Oliverio Stefania

# La Fermentazione

Il termine *fermentazione* deriva dal latino *fervere* (ribollire), termine usato per indicare l'aspetto del mosto durante la preparazione del vino.

I microrganismi, ovviamente, sono i protagonisti poiché la buona riuscita della trasformazione degli alimenti fermentati dipende soprattutto dalla loro attività; gli alimenti fermentati, hanno origini antiche e la loro produzione tradizionale avviene grazie l'azione di microrganismi che, naturalmente, sono presenti nella materia prima.

## La Fermentazione in origine

Si sfruttavano in vari modi le modifiche provocate dagli allora sconosciuti batteri: **cereali e frutta venivano trasformate in bevande alcoliche (a.C. 550)**

Mentre il **latte** veniva fatto fermentare e trasformato in formaggio.

**Omero**, per esempio, quando **nell'Odissea** narra del ciclope Polifemo (uno dei più famosi pastori della letteratura), descrive in modo particolareggiato la mungitura delle pecore e la trasformazione del latte in formaggio.



## La Fermentazione in origine

L'origine del formaggio si fa risalire alla Mesopotamia, dove i popoli nomadi usavano come otri gli stomaci o le vesciche degli animali.

Si pensa che il latte messo in questi contenitori per il trasporto sia coagulato, essendo a contatto con gli enzimi.

Da qui l'introduzione delle cagliate e successivamente dei formaggi.



## Da ieri ad oggi..

Tra il 1857 e il 1876 **Louis Pasteur** dimostrò la natura microbica delle modificazioni chimiche (fermentazioni) che avvenivano negli alimenti e nelle bevande.

Nel 1878 **Lister** ha isolato il primo batterio in coltura pura, identificato come *Bacterium lactis* (oggi *Lactococcus lactis*).

Nel 1890 è stata impiegata la prima coltura starter per la produzione di formaggi, aprendo la strada verso l'industrializzazione delle fermentazioni alimentari.





# Colture Starter nei salami...ieri e oggi

Storicamente la coltura *starter* era rappresentata da una parte dell'alimento, fermentato correttamente, che era poi addizionato al nuovo prodotto (es. impasto carneo, latte, ecc...).

Usato dai produttori di salami questo reinnesto dava risultati variabili, non assicurando sempre la corretta fermentazione dell'insaccato.

Oggi si tratta di una coltura microbica impiegata allo scopo di avviare (da qui il termine STARTER) un processo di trasformazione e di assicurarne l'esito tecnologico.

**Oggi giorno, una fermentazione deve poter essere prevedibile ed assicurare la qualità dell'alimento fermentato.**

- ✓ **Colture starter:** hanno attività metaboliche di interesse tecnologico (capacità acidificante, proteolitica, aromatizzante e addensante..);
- ✓ **Colture protettive:** svolgono soprattutto azioni antimicrobiche;

**La prima caratteristica che deve accomunare i diversi ceppi selezionati per le colture starter e/o protettive è l'assenza di rischi per la salute.**



# Salume

Carne e grasso

Sale

Spezie

Aromi

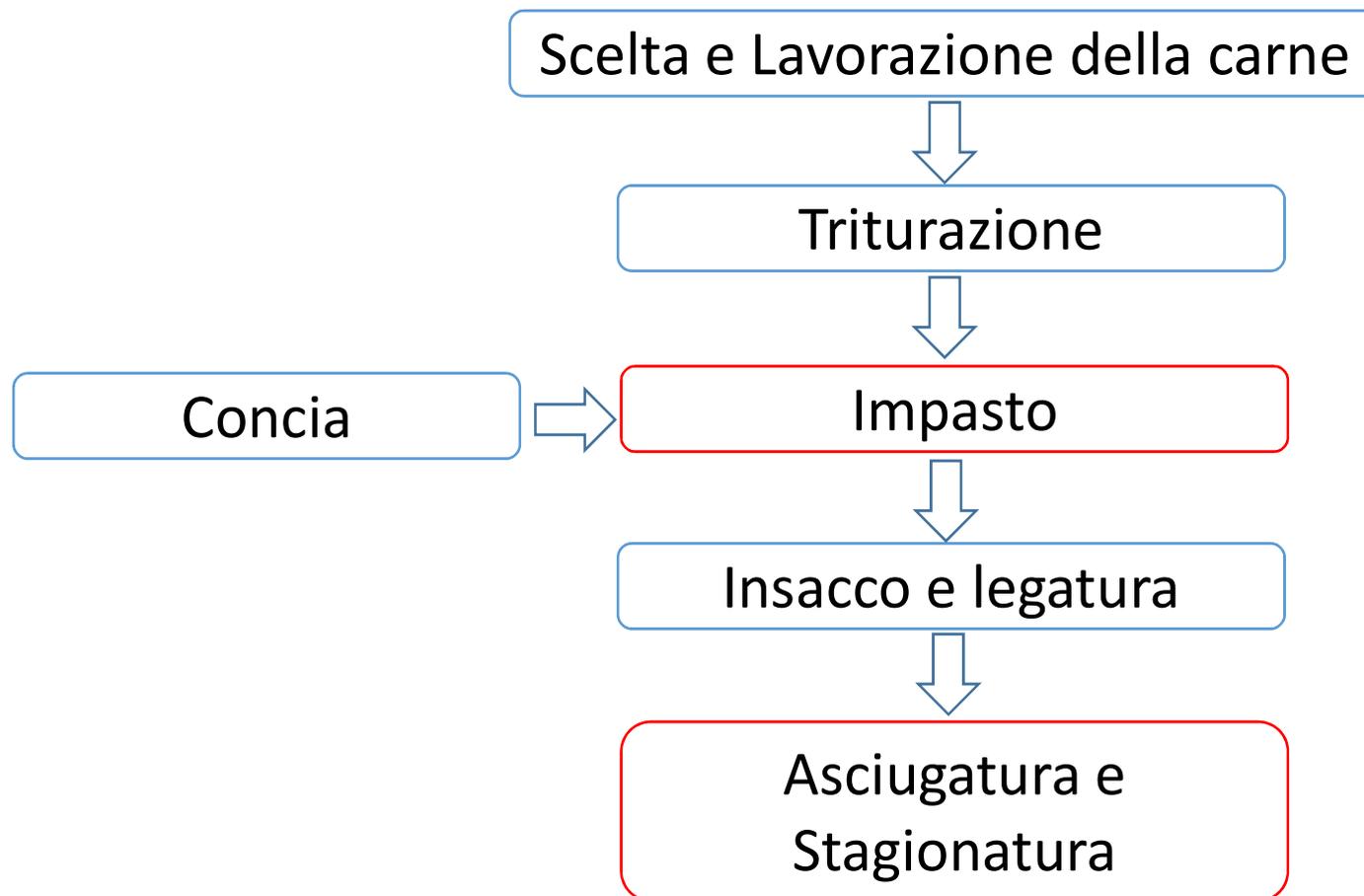
Additivi

Starter

Budello



# Diagramma di flusso del salame crudo



Il processo di trasformazione che porta alla produzione dei salami è la **FERMENTAZIONE**

Le **colture starter** vengono preparate per liofilizzazione e messe in commercio come

- Concentrati congelati
- Colture liquide

Vengono aggiunti generalmente nell'impasto.

**Muffe** e **lieviti** possono essere aggiunti all'impasto; tuttavia nella maggior parte dei casi l'inoculo delle muffe selezionate avviene tramite una soluzione di H<sub>2</sub>O e spore per spennellamento, immersione o nebulizzazione.

## Perché l'uso di colture starter nei salami?

Hanno la capacità di favorire la conservazione dei salami per antagonismo con la flora batterica originale delle carni, di creare l'aroma tipico del prodotto e di migliorarne il colore.



# Fonti di contaminazione

Le materie prime possono essere contaminate da:

- ✓ Aria
  - ✓ Acqua
  - ✓ Suolo
  - ✓ Superfici vegetali e animali
- ⇒ Contaminazione primaria

- ✓ Ambiente di trasformazione
  - ✓ Ambiente di conservazione
  - ✓ Superfici, utensili e attrezzature
  - ✓ Personale
- ⇒ Contaminazione secondaria

- ✓ Dopo la macellazione, la carne dev'essere trattata con precauzioni igieniche e rapidamente raffreddata, essendo un terreno favorevole alla crescita e moltiplicazione di germi.
- ✓ Subito dopo la macellazione, l'interno del muscolo di un animale **è di norma sterile**, al massimo può contenere da **1 a 10 germi per 100g di carne.**
- ✓ Con il prolungarsi del periodo di conservazione, la CBT della carne arriva fino a  **$10^6$  germi/grammo**, senza variazioni organolettiche apprezzabili.



Il processo tecnologico a cui l'alimento viene sottoposto determina variazioni **quanti – qualitative** della microflora presente naturalmente o aggiunta, come conseguenza delle modificazioni delle caratteristiche chimico – fisiche dell'alimento.

Le carni in pezzi, tritate, disossate meccanicamente, sono sensibili alla proliferazione batterica in quanto hanno una superficie esterna maggiormente esposta e sono soggette a manipolazioni.



I fattori ecologici che influenzano il comportamento dei microrganismi negli alimenti, vengono classificati in quattro gruppi principali:

FATTORI INTRINSECI

FATTORI ESTRINSECI

FATTORI DI PROCESSO

FATTORI IMPLICITI

## FATTORI INTRINSECI

Composizione chimica dell'alimento:  
Aw, pH, presenza di antimicrobici naturali o conservanti aggiunti;  
potenziale redox;

## FATTORI ESTRINSECI

Condizione esterne: temperatura, umidità, composizione gassosa dell'atmosfera;

## FATTORI DI PROCESSO

Processi tecnologici applicati: trattamenti termici, refrigerazione, salagione, acidificazione, **aggiunta starter**;

## FATTORI IMPLICITI

Sinergismo, antagonismo e tasso di crescita tra i microrganismi che hanno colonizzato l'alimento in condizioni date da fattori intrinseci ed estrinseci;

# Microrganismi utili, dannosi e indifferenti

I tipi e il numero di organismi presenti negli alimenti dipendono dall'azione combinata di numerosi fattori.

Tra i **microrganismi utili** rientrano:

- ✓ Gli agenti di trasformazione e conservazione degli alimenti
- ✓ I probiotici

I **microrganismi dannosi** comprendono:

- ✓ I patogeni, trasmessi per via alimentare;
- ✓ I responsabili delle alterazioni alimentari.



# Microrganismi alteranti e dannosi

**Microrganismi alteranti o degradativi:** costituiti da enterococchi (*Enterococcus faecalis*, *Enterococcus faecium*), che conferiscono ai salami gusti e odori sgradevoli, e batteri lattici eterofermentanti, che determinano un sapore acre causato dall'acido acetico prodotto;

**Microrganismi dannosi (patogeni):** costituiti da *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, *Yersinia enterocolitica*, *Clostridium botulinum* e *Clostridium perfringens*

Quali sono i microrganismi utili  
responsabili della fermentazione  
nei salami?



# Colture starter nei salami

I microrganismi tipici e responsabili della fermentazione dei salami sono:

i batteri lattici omofermentanti mesofili del genere **Lactobacillus** (*Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus curvatus*, *Lactobacillus sakei*) e del genere **Pediococcus** (*Pediococcus acidilactici*, *Pediococcus pentosaceus*) insieme a micrococcacee del genere **Micrococcus** e **Staphylococcus** (specie non emolitiche come ad esempio *Staphylococcus xylosus* e *Staphylococcus carnosus*);

Questi costituiscono la flora predominante durante la fermentazione;

# I Micrococchi

Le Micrococcaceae sono una famiglia di batteri Gram-positivi, aerobi o anaerobi facoltativi, catalasi positivi.

Per il genere *Micrococcus* la specie più frequente è *Kocuria varians* mentre per il genere *Staphylococcus* sono usate le specie *Staphylococcus xylosum* e *Staphylococcus carnosus*, entrambi coagulasi negativi.

Si sviluppano in presenza di ossigeno, per cui la loro azione è attiva subito dopo l'insacco, quando nella carne è ancora presente ossigeno.

Il metabolismo aerobio comporta la respirazione di  $O_2$  con formazione principalmente di  $H_2O$  e  $CO_2$ , quindi un ambiente anaerobico

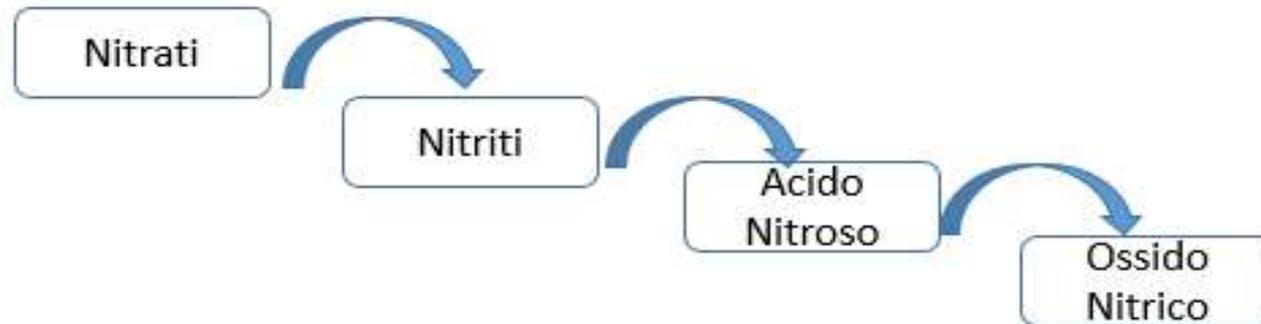


contribuisce all'**inibizione dell'irrancidimento**, sfavorevole per le specie dannose e favorevole per lo sviluppo di batteri lattici.

Inizialmente i micrococchi sono prevalenti perché costituiscono un'importante componente della microflora spontanea degli impasti, ma, terminato  $O_2$ , sono sostituiti dagli stafilococchi.

Gli stafilococchi si differenziano dai micrococchi per essere anaerobi facoltativi e, in assenza di  $O_2$  consumato precedentemente dai micrococchi, conducono una fermentazione sostanzialmente lattica con produzione di piccole quantità di altri prodotti (acido acetico).

- ✓ Sono i responsabili della **stabilità del colore**, essendo nitrato-riduttori (riducono i nitrati in nitriti attraverso l'enzima nitratoriduttasi);
- ✓ Infine, per reazione chimica spontanea in mezzo acido, si ha la conversione dei nitriti ( $\text{NO}_2$ ) in acido nitroso ( $\text{HNO}_2$ ) che poi si converte in ossido nitrico ( $\text{NO}$ ).



- ✓ L'ossido nitrico (NO) si lega alla mioglobina presente nella carne formando la nitrosomioglobina (rosso vivo).



- ✓ Il mantenimento del colore rosso della carne, a partire dalla fase di maturazione, è però dato dall'abbassamento del pH che denatura la parte proteica della nitrosomioglobina formando il nitroso-miocromogeno di colore rosso vivo

- ✓ **prevengono la rancidità** grazie all'attività catalasica;
- ✓ **liberano molecole aromatiche** derivanti dall'attività lipolitica (degradazione del grasso in acidi grassi liberi, aldeidi e chetoni) e proteolitica (degradazione proteica in peptidi, amminoacidi ed ammoniaca) .

# I Batteri Lattici

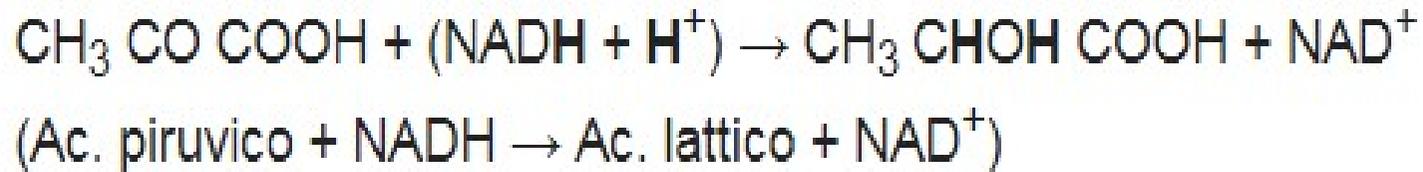
Il *Lactobacillus* è un batterio Gram-positivo anaerobio facoltativo, ne esistono numerose specie in natura e costituiscono la maggior parte del gruppo di batteri lattici.

Sono responsabili della fermentazione lattica e sviluppano la loro azione in presenza di zuccheri ed in condizione di anaerobiosi.

I lactobacilli sono distinti in:

- ✓ *omofermentativi*, nel caso producano quasi esclusivamente acido lattico (oltre il 90% dei prodotti di fermentazione);
- ✓ *eterofermentativi*, responsabili in questo caso della fermentazione eterolattica;

Nella fermentazione catalizzata dagli omofermentanti due atomi di idrogeno vengono trasferiti sul carbonio in posizione 2 dell'acido piruvico, producendo acido lattico:



Nella fermentazione eterolattica si ha la trasformazione del glucosio in

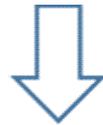


Nella fermentazione dei salami i più idonei sono gli omofermentanti perché danno una fermentazione più pulita (con minima quantità di composti secondari) ed un pronto abbassamento del pH;

Quelli maggiormente in uso sono i *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus curvatus* e *Lactobacillus sakei*.

I batteri lattici eterofermentanti non sono voluti poiché accumulano prodotti sgraditi come la CO<sub>2</sub> (gonfiori con conseguenti irrancidimenti e buchi nell'impasto), H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (inverdimento del prodotto) e altri composti che potrebbero influenzare le caratteristiche organolettiche tipiche dei salami.

- ✓ Grazie alla formazione di acido lattico conseguenza della fermentazione lattica è l'**acidificazione** della matrice. Il pH si abbassa fino a raggiungere valori  $< 5,3$  (punto isoelettrico della carne)



- ✓ Con l'abbassamento del pH si riduce la capacità di trattenimento dell'acqua da parte della carne, a causa della denaturazione proteica. Le proteine muscolari formano un gel che lega come in un reticolo grasso o carne, da ciò ne consegue **un incremento della texture.**



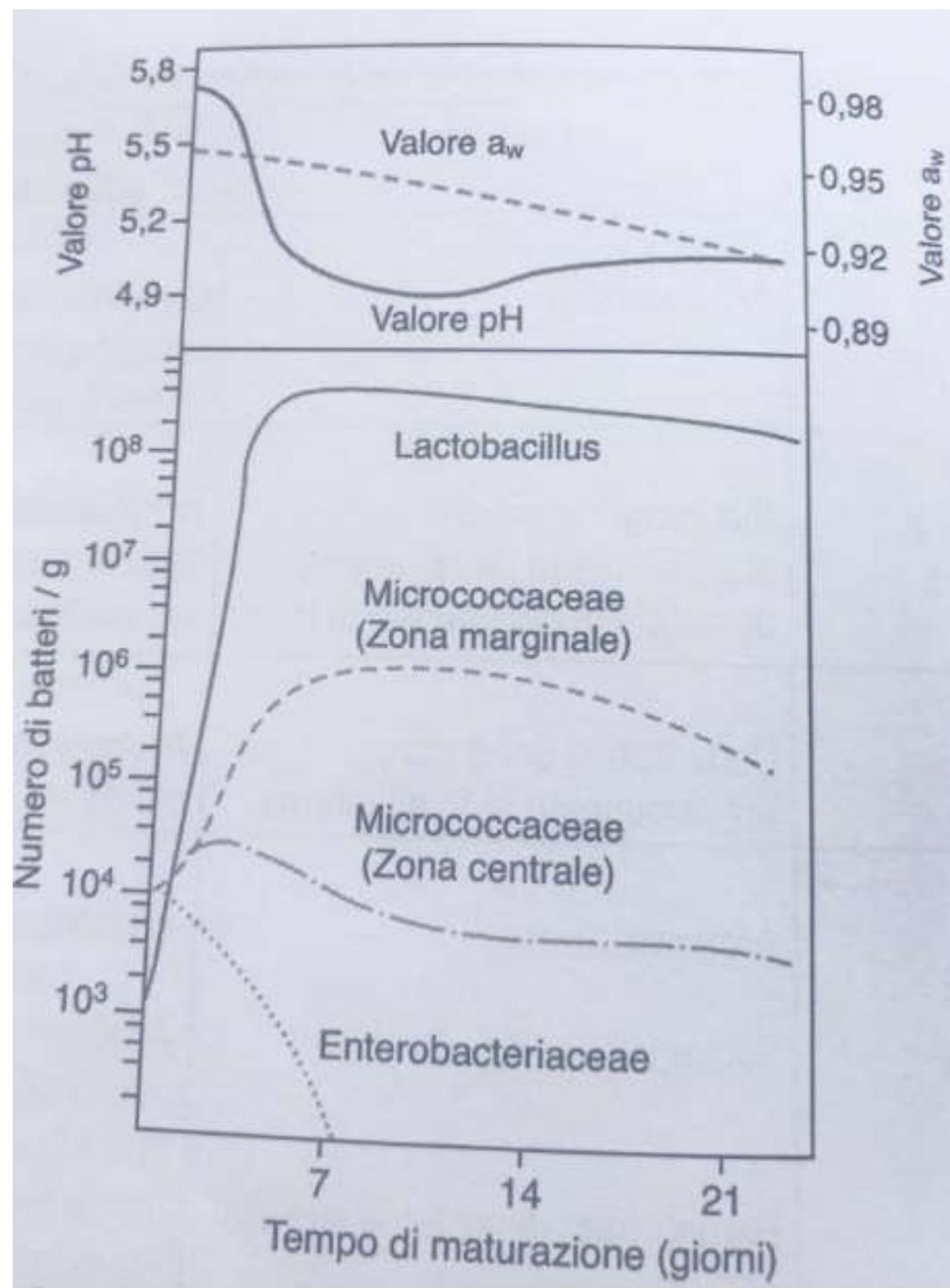
- ✓ **contrastano l'attività dei patogeni** e degli alteranti perché liberano acidi organici e batteriocine.
  
- ✓ Inoltre, **intervengono nella produzione dell'aroma**, per via dell'attività proteolitica.

# I Pediococchi

Si tratta di un genere di batteri lattici Gram-positivi appartenenti alla famiglia dei Lattobacilli. Sono omofermentativi e, pertanto, inducono un abbassamento del pH attraverso la formazione di acido lattico.

Sono utilizzati soprattutto nella fermentazione dei cavoli, rendendolo crauti, ma anche in formaggi o nella fermentazione delle carni.

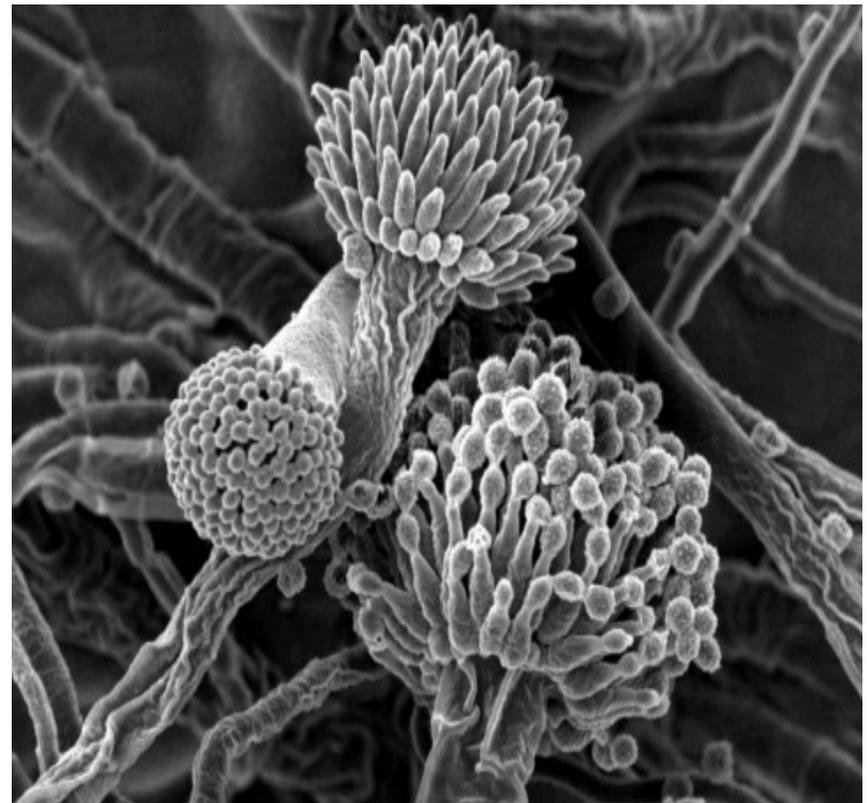
**Sviluppo dei microrganismi durante la maturazione della salsiccia cruda.** Preparazione delle salsicce con saccarosio o glucosio(0,5-0,7%), nitrito e a medie temperature di maturazione (nelle prime settimane due-tre giorni a 22-24°C, poi due- tre giorno 20-22°C)



## Le Muffe

Le muffe sono accomunate da un metabolismo strettamente aerobio e fanno parte di un grande gruppo di organismi eterotrofi, i funghi. La loro principale caratteristica distintiva è la struttura vegetativa filamentosa nota col nome di micelio: consiste in un sistema di cellule riunite in lunghi filamenti chiamati ife.

Le ife penetrano profondamente nel mezzo su cui sviluppano provvedendo alla nutrizione dell'intero fungo che riesce ad utilizzare la maggior parte dei composti organici naturali.



La selezione delle muffe si svolge tenendo conto di tre caratteri fondamentali:

- ✓ non devono produrre micotossine (ciò è legato al ceppo e deve essere comunque testato ceppo per ceppo);
- ✓ devono avere preferibilmente micelio bianco;
- ✓ devono avere velocità di moltiplicazione sul budello colonizzandolo rapidamente e completamente;



Il principale aspetto negativo delle muffe, oltre al fatto che sono molto alteranti, è che gli aspergilli sono grandi produttori di micotossine, tossiche per l'uomo.

Le muffe che sono fatte oggetto di selezione e che vengono usate come colture starter appartengono al genere *Penicillium*, in particolare del *Penicillium nalgiovense*, poiché soddisfa sia il fatto di avere il micelio bianco (rende più gradevole l'aspetto esteriore dei prodotti) sia la capacità di non produrre micotossine; inoltre presenta potere proteolitico e lipolitico.

I penicilli cominciano a moltiplicarsi superficialmente ma il loro micelio penetra all'interno dell'impasto dove trova come unica fonte di carbonio l'acido lattico prodotto dalla fermentazione lattica: determinano, così, una **disacidificazione** e un contemporaneo aumento del pH.

La loro presenza è importante anche perchè mantengono l'umidità del prodotto ad un livello quasi costante in tutto il volume: **le muffe**, infatti, **funzionano come regolatrici dell'umidità**, sottraendo H<sub>2</sub>O in caso di eccessi ed impedendo il disseccamento in caso contrario.

Prevengono la formazione di croste sul budello ⇒ maggiore distacco dal budello

# I Lieviti

Sono funghi unicellulari che si moltiplicano prevalentemente per gemmazione (dalla cellula madre viene prodotta una protuberanza chiamata gemma, che appena matura si separa dalla madre).

In alcuni stadi della loro vita cellulare possono moltiplicarsi sessualmente mediante formazione e fusione di spore.

Sono aerobi e microaerofili. In anaerobiosi la crescita è inibita ed il loro metabolismo è di tipo fermentativo.

Contribuiscono a:

✓ consumo di ossigeno all'interno dell'impasto;

✓ degradazione delle proteine



**Aroma del salame**

✓ degradazione dei grassi (**lipolisi**);

# Finalità dell'aggiunta di colture starter nella maturazione dei salami crudi

Colture Starter	Finalità	Effetti positivi sul salame
<b>Batteri Lattici</b> <u>Lactobacillus plantarum</u> <u>Pediococcus pentosaceus ecc..</u>	Acidificazione	Conservazione, rassodamento, accelerazione del colore rosso <u>aromatizzazione</u>
<b>Micrococcaceae</b> <u>Staphylococcus carnosus</u> <u>Staphylococcus xylosus</u> <u>Micrococcus varians</u>	Riduzione dei nitrati Abbassamento del potenziale redox interno Demolizione dei grassi e di H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	Colorazione rossa, conservazione, aromatizzazione, stabilizzazione del gusto e del colore
<b>Lieviti</b> <u>Debaryomyces hansenii</u>	Abbassamento del potenziale redox interno Demolizione dei grassi e di H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	Aromatizzazione, stabilizzazione del colore
<b>Muffe</b> <u>Penicillium nalgiovense</u> <u>P. chrysogenum</u>	Aromatizzazione Sviluppo superficiale Demolizione di proteine e grassi	Aromatizzazione Allontanamento di microrganismi indesiderabili (inibizione delle micotossine) Protezione contro l'indurimento, l'ossidazione e la luce

## Vantaggi nell'utilizzo degli starter

All'utilizzo di starter ne consegue:

- un controllo diretto e indiretto delle fermentazioni;
- Una riduzione significativa o totale dei germi patogeni, alteranti, contaminanti;
- l'accorciamento del processo di maturazione;
- Un aumento della consistenza del prodotto;
- Un aumento della durata commerciale del prodotto;
- Un rafforzamento del colore e dell'aroma del prodotto



# Coadiuvante tecnologico si o no?

Il Reg. CE 1333 del 2008 definisce i coadiuvanti tecnologici nell'art. 3 lettera b):

- b) per «coadiuvante tecnologico» s'intende ogni sostanza che:
  - i) non è consumata come un alimento in sé;
  - ii) è intenzionalmente utilizzata nella trasformazione di materie prime, alimenti o loro ingredienti, per esercitare una determinata funzione tecnologica nella lavorazione o nella trasformazione; e
  - iii) può dar luogo alla presenza, non intenzionale ma tecnicamente inevitabile, di residui di tale sostanza o di suoi derivati nel prodotto finito, a condizione che questi residui non costituiscano un rischio per la salute e non abbiano effetti tecnologici sul prodotto finito;





CORSO DI AGGIORNAMENTO  
SPECIALISTICO SULLE MATERIE PRIME  
CAGLIARI  
6-7 OTTOBRE 2018

Grazie  
dell'attenzione!!!

Dott.ssa Oliverio Stefania