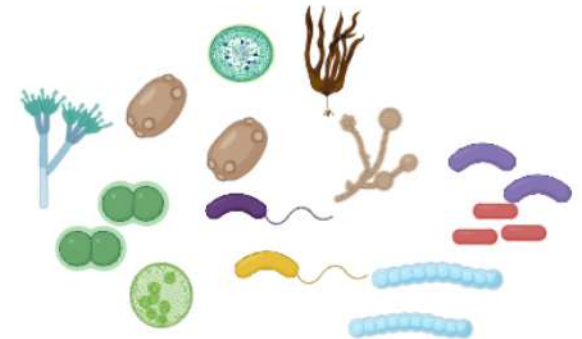


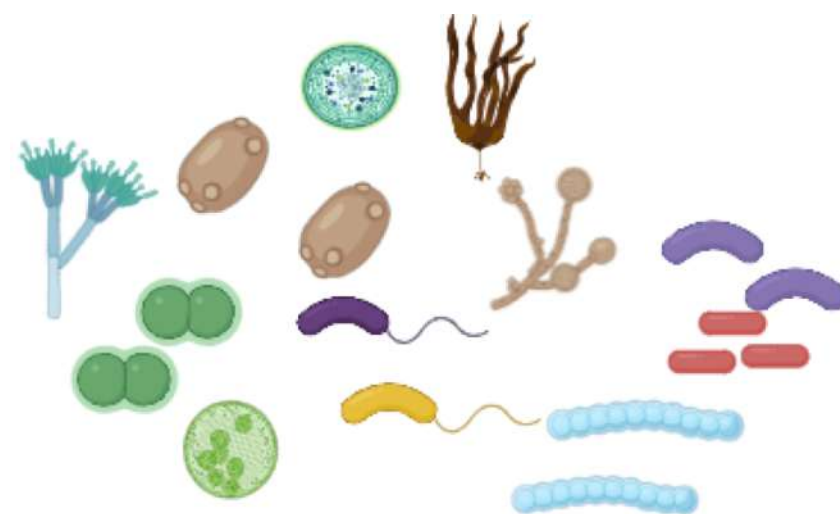
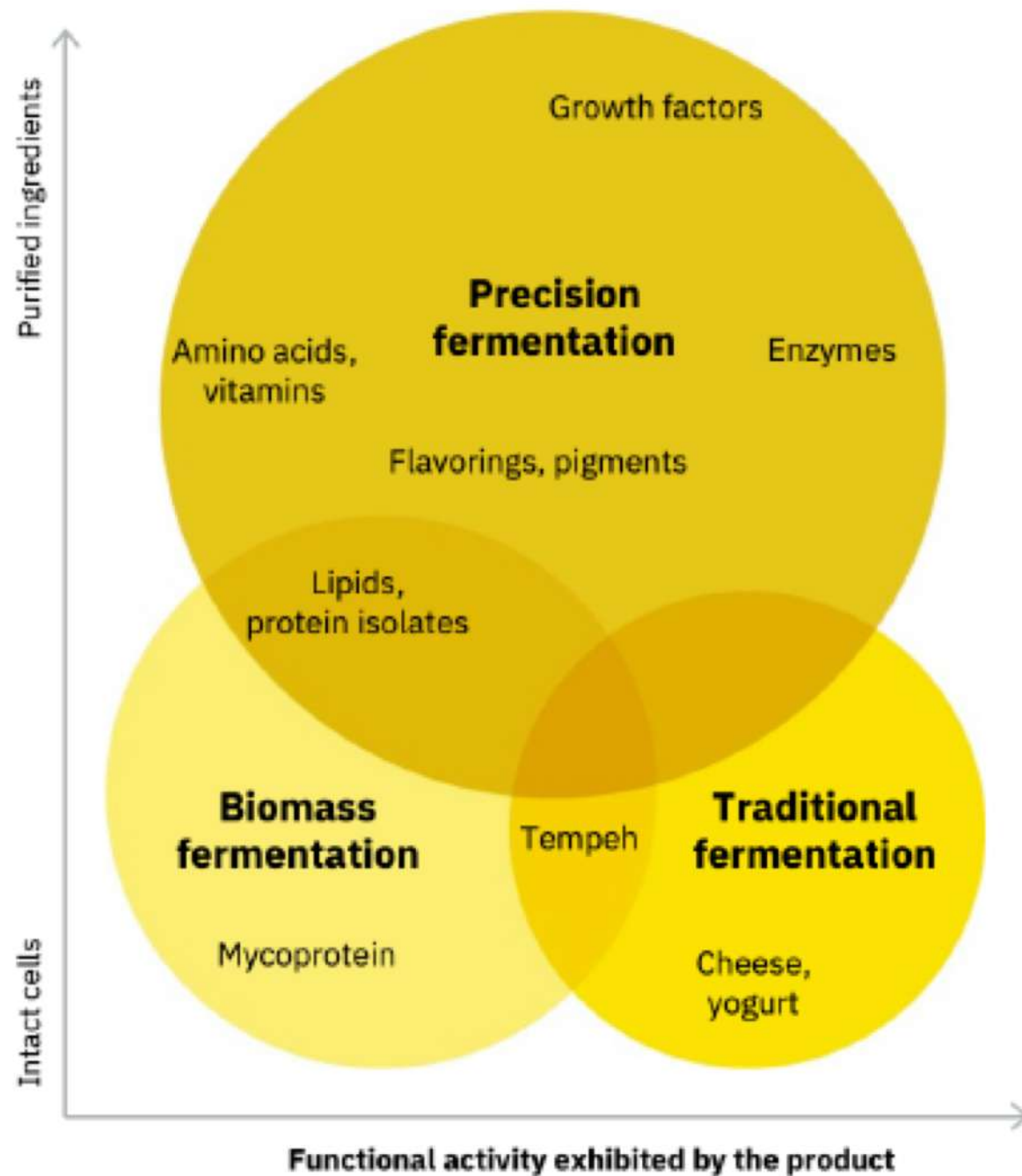
Colture Starter e probiotici

Microorganismi utilizzati nelle produzioni alimentari

- **Produzione di alimenti fermentati**
- **Aggiunti per migliorare il valore nutrizionale degli alimenti, ad esempio probiotici.**
- **Utilizzati come fonti alimentari direttamente, ad esempio: alga blu-verde, clorella e le alghe marine, Mycoproteine (cioè proteina dai funghi).**



Degree of downstream purification required



Le fermentazioni

Fermentazione – significato biologico e biotecnologico

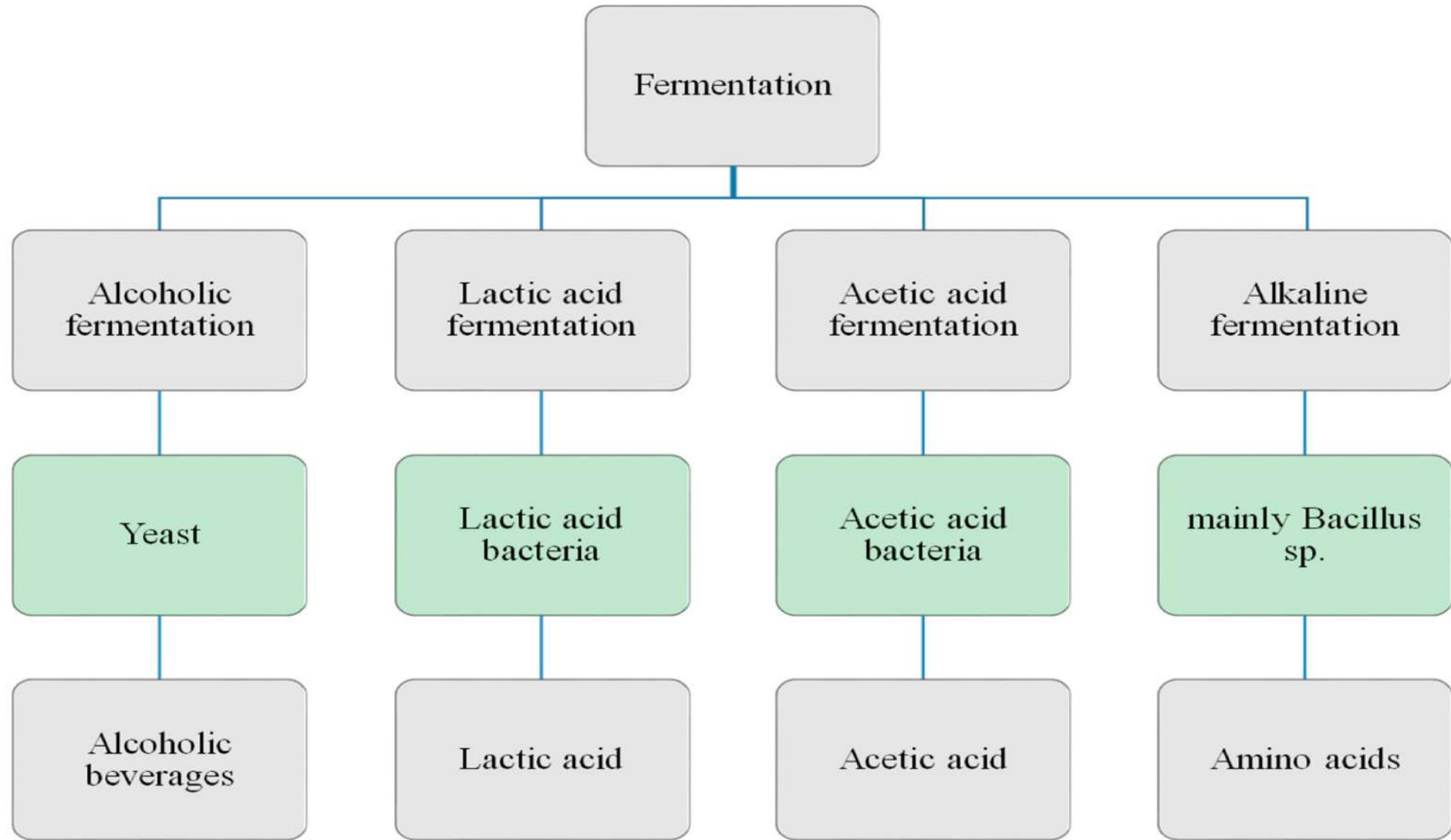
- Per il biotecnologo: “Fermentazione” indica qualsiasi processo microbico che trasformi sostanze organiche.
- Definizione chimica rigorosa:
La fermentazione è un processo ossidoriduttivo nel quale un composto organico agisce sia da donatore che da accettore di elettroni.

Prodotti della fermentazione

I prodotti alimentari (yogurt, kefir, formaggi, bevande, condimenti, sottaceti, crauti, salami fermentati, proteine unicellulari (*single-cell protein*)).

Nel settore chimico industriale solventi come acetone, butanolo ed etanolo, oltre a enzimi, amminoacidi etc...

Tra i prodotti “specialty” rientrano invece vitamine, farmaci e altre molecole ad alto valore aggiunto prodotte tramite processi fermentativi.



La fermentazione degli alimenti può essere sostanzialmente effettuata in tre modi:

- Fermentazione naturale o spontanea
- Back-slopping
- Aggiunta di colture starter

Le fermentazioni spontanee

avvengono con una successione microbica:

esempio (dipende dall'alimento):

I batteri lattici (LAB) sono i primi a svilupparsi e a dominare l'ambiente, mentre le specie di lieviti compaiono successivamente.

Le muffe, invece, possono crescere solo in presenza di ossigeno, il che limita il loro ruolo a particolari tipologie di prodotti fermentati.

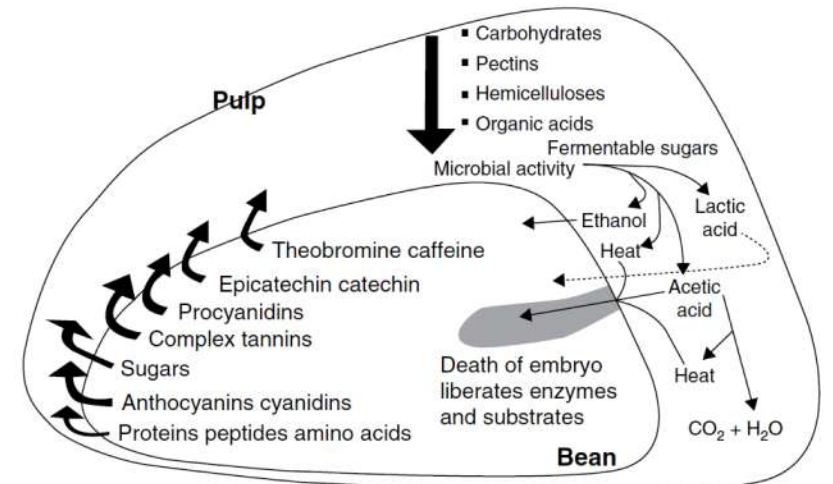
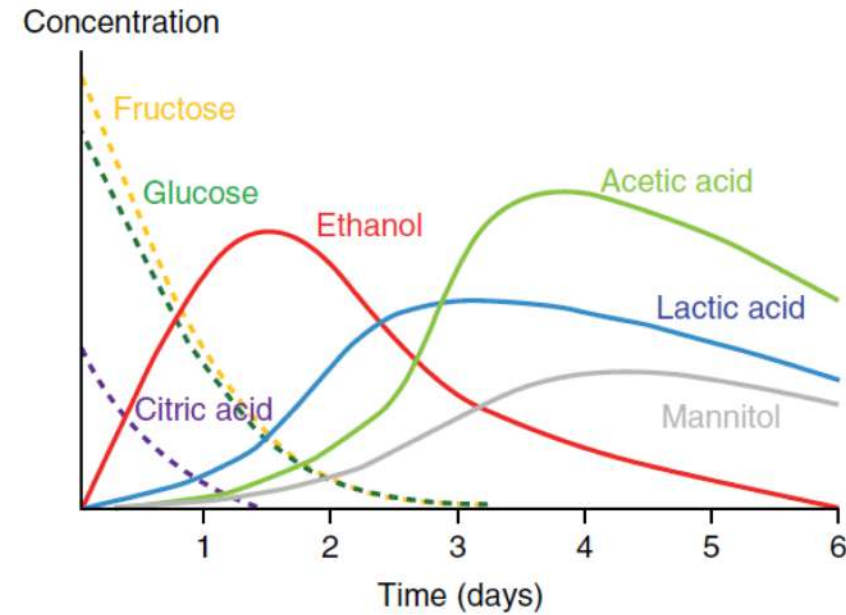
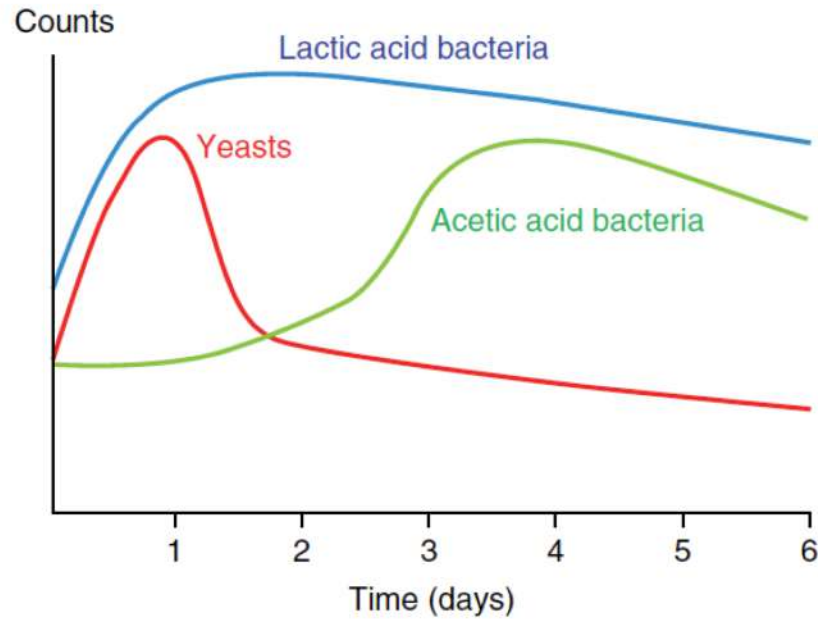
I LAB producono acido lattico e altri metaboliti antimicrobici che inibiscono i batteri indesiderati; consumando gli zuccheri, contribuiscono anche a prolungare la shelf life del prodotto.

I lieviti intervengono soprattutto nella formazione di aromi e alcol, arricchendo il profilo sensoriale della fermentazione.

Quando presenti, le muffe apportano enzimi proteolitici e lipolitici, sia intracellulari sia extracellulari, che modificano in modo rilevante sapore, consistenza e maturazione del prodotto.

Cacao

Le fave di cacao fresche hanno un sapore astringente, sgradevole e amaro, e risultano poco appetibili; devono quindi essere sottoposte a fermentazione dopo la raccolta per poter conferire al cioccolato un gusto intenso e gradevole.



Cacao

Durante la **fase 1**, nelle prime 24–48 ore di fermentazione delle fave di cacao, i lieviti convertono saccarosio, glucosio e/o fruttosio in alcol (etanolo).

Durante la **fase 2**, circa tra 24 e 72 ore di fermentazione, entrano in attività i batteri lattici (LAB), microaerofili e acidurici, già presenti dall'inizio del processo. I LAB fermentano un'ampia gamma di zuccheri (principalmente glucosio e fruttosio), in modo omo- o eterofermentativo, producendo acido lattico, acido acetico, etanolo e/o anidride carbonica, e convertono alcuni acidi organici in acido lattico.

Durante la **fase 3**, tra 24 e 112 ore dall'inizio della fermentazione, intervengono i batteri acetici (AAB), aerobi. La loro attività principale consiste nell'ossidare l'etanolo, prodotto inizialmente dai lieviti, trasformandolo in acido acetico. Inoltre, la diminuzione della concentrazione di etanolo coincide con un calo dell'acido lattico, indicando una ossidazione simultanea, da parte degli AAB, dell'etanolo in acido acetico e dell'acido lattico in acido acetico e/o acetoin.

Yeasts: *Candida, Debaryomyces, Hanseniaspora, Kluyveromyces*

LAB: *Lact. fermentum and Lact. plantarum*

AAB: *Acetobacter pasteurianus and A. ghanensis*

Vegetali fermentati

Nelle verdure e nei frutti freschi può avvenire spontaneamente la fermentazione lattica quando le condizioni di anaerobiosi, a_w , UR, sale e $T^{\circ}\text{C}$ risultano favorevoli alla crescita dei batteri lattici autoctoni.

L'aggiunta di sale, oppure l'immersione delle verdure fresche in salamoia, rende l'ambiente più adatto allo sviluppo dei LAB.

La sintesi di anidride carbonica da parte dei LAB eterofermentanti contribuisce ulteriormente a mantenere l'anaerobiosi. Inoltre, l'acidificazione della matrice vegetale da parte dei LAB provoca la morte della microbiota alterante meno tollerante all'acidità.

Il **kimchi** è un alimento tradizionale coreano ottenuto da diverse verdure fermentate dai *Lactobacillus*.



I **crauti** si ottengono fermentando il cavolo grazie ai *Lactobacillus* naturalmente presenti sulle foglie.

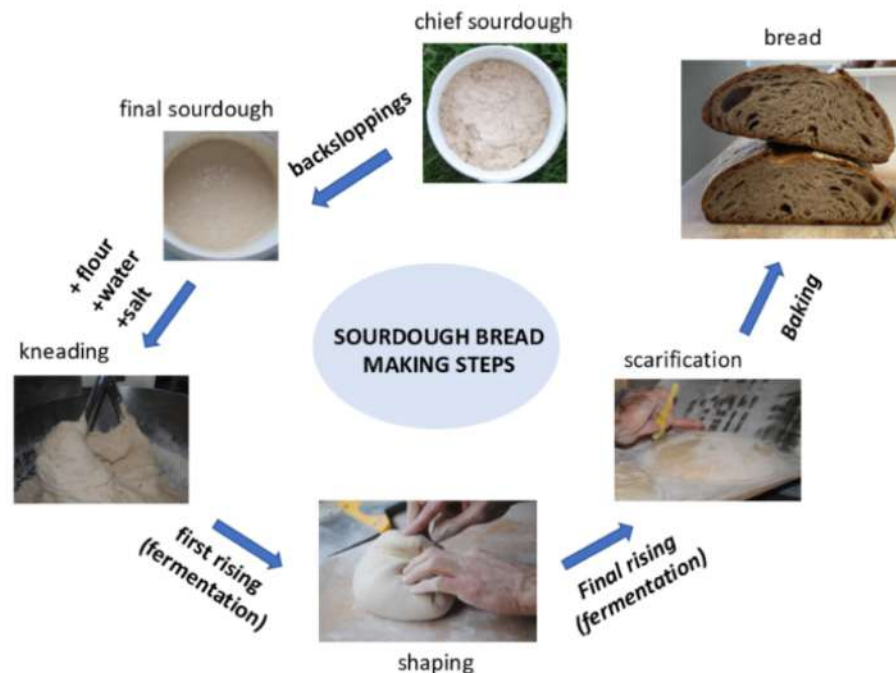
I sottaceti e le **olive verdi** possono essere prodotti fermentando le verdure in salamoia: i *Lactobacillus* producono acido, abbassano il pH e preservano il contenuto. Tuttavia, molti sottaceti vengono preparati semplicemente aggiungendo aceto, che riduce direttamente il pH senza fermentazione.



Back-slopping

Nel back-slopping, una parte di un lotto di un prodotto fermentato viene utilizzata per inoculare un nuovo lotto.

Questa procedura produce un numero iniziale di microrganismi benefici superiore a quello presente nella materia prima e garantisce una fermentazione più rapida e affidabile rispetto a quella che si verifica nella fermentazione spontanea.



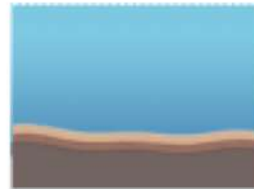
Le colture starter

Le colture starter sono preparazioni di microrganismi sicuri (batteri, lieviti, muffe) utilizzati intenzionalmente come ingredienti caratteristici nella produzione alimentare. Servono per garantire qualità, sicurezza e costanza nei prodotti fermentati.

Definizione: concentrazioni $>10^7$ UFC/g o mL di microrganismi vitali, insieme ai loro metaboliti e ai nutrienti necessari alla loro sopravvivenza.

Aggiunta di colture starter

Ci sono due potenziali fonti di starter: possono essere trovati in natura oppure possono essere ottenuti tramite il miglioramento di ceppi già in uso.



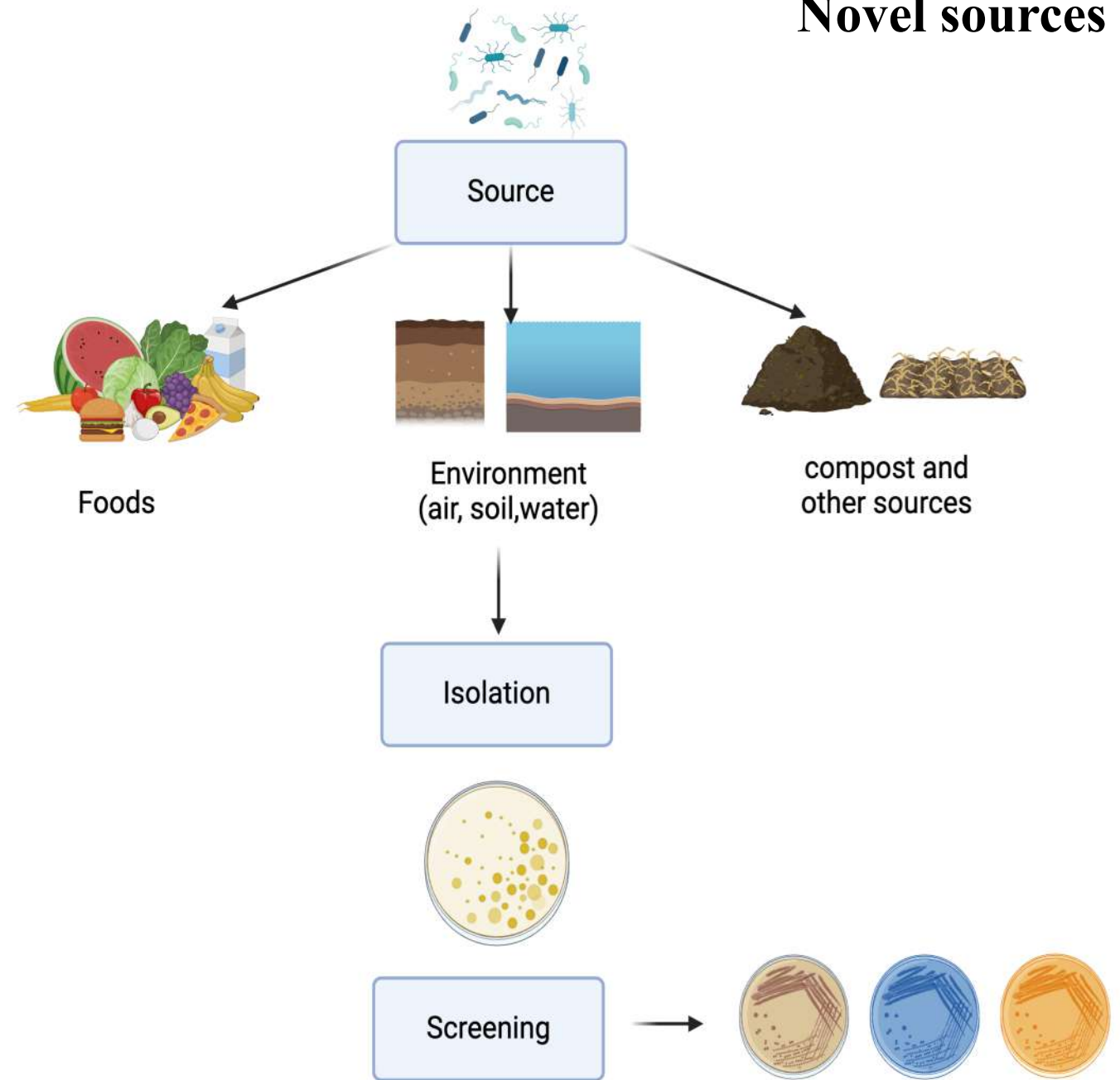
Novel sources



Improvement of strains

Il primo passo nello sviluppo di starter è l'isolamento dei microrganismi interessati dai loro habitat naturali.

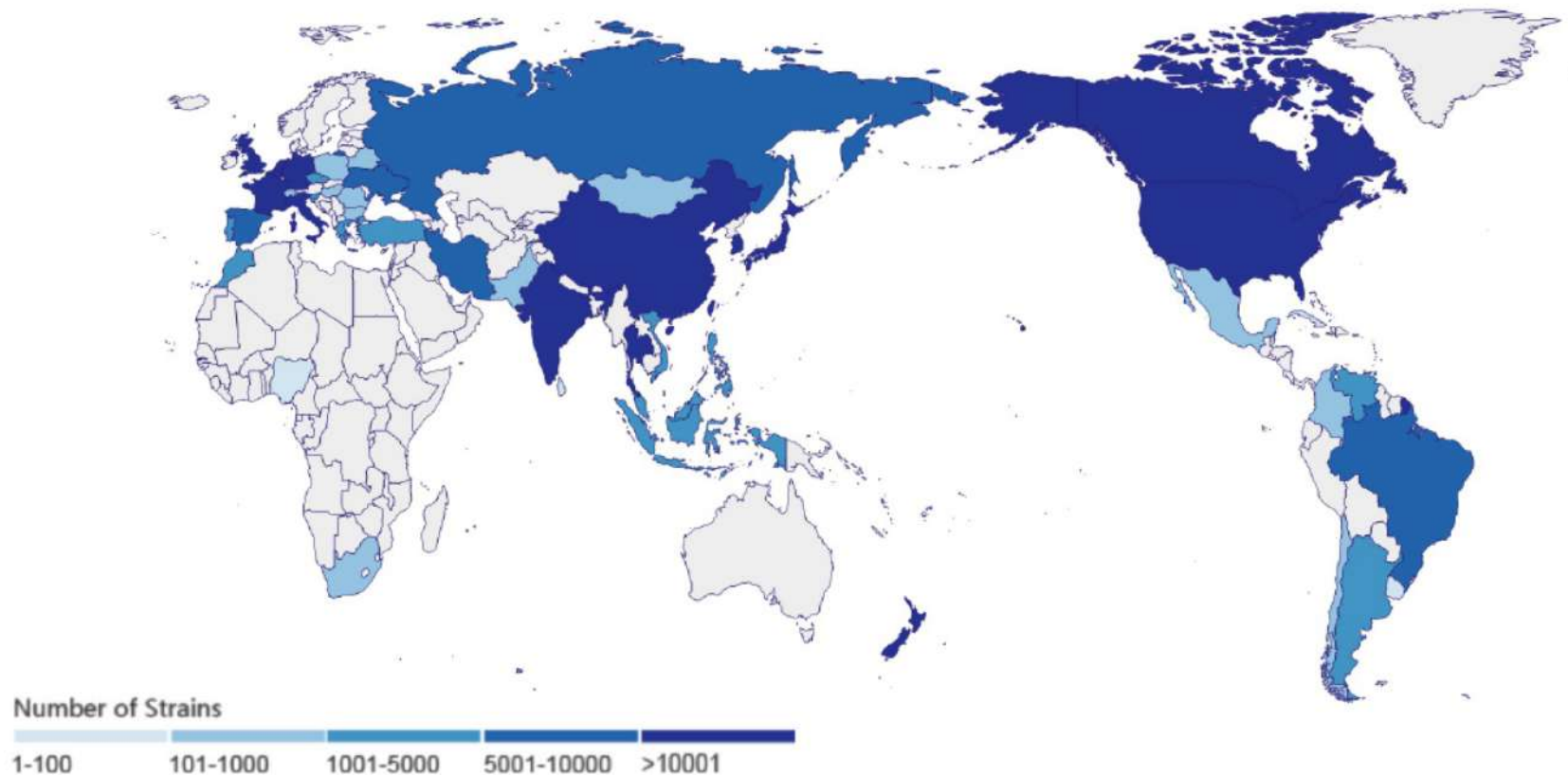
La procedura di isolamento, rilevamento e separazione dei microrganismi di nostro interesse da una popolazione mista, utilizzando procedure altamente selettive, è chiamata screening.



Culture collections today

Today more than 250 public culture collections exist in Europe and **more than 800 worldwide**.

- Different microbial groups (bacteria, archaea, yeasts, filamentous fungi, microalgae, cyanobacteria, viruses, protozoa)
- Different origin (water, soil, air, food, human, plants, animals etc etc)



Culture collections In Italy

Joint Research Unit (JRU) MIRRI-IT
(www.mirri-it.it)

27 Institutions



Strengthen the national network of biobanks of microorganisms (viruses, bacteria, yeasts, filamentous fungi and microalgae) to preserve and valorize microbial biodiversity by providing effective tools to face major social, economic and environmental challenges.

Tipo di coltura	Microrganismi principali	Funzione / Esempio
Acidificanti/Texture	Batteri lattici (<i>Lactobacillus</i> , <i>Pediococcus</i>)	Producono acido lattico → abbassano il pH e stabilizzano prodotti come yogurt, salumi, formaggi
Per aroma e colore	<i>Staphylococcus</i> , <i>Debaryomyces</i>	Conferiscono gusto e colore tipico a salumi e formaggi stagionati
Per copertura superficiale	<i>Penicillium nalgiovense</i>	Forma la “muffa nobile” sulla superficie dei salami → protegge e migliora l’aspetto
Per bioprotezione	<i>Pediococcus acidilactici</i> , <i>Latilactobacillus curvatus</i>	Inibiscono patogeni come <i>Listeria monocytogenes</i> → aumentano la sicurezza alimentare

Salsa di soia

semi di soia inoculati con *Aspergillus oryzae* o *Aspergillus sojae*.
Le spore si sviluppano producendo enzimi che degradano amidi e proteine in zuccheri semplici e amminoacidi.

La miscela viene poi combinata con sale e acqua per formare una massa, successivamente trasferita in serbatoi di fermentazione.

In questa fase vengono introdotti altri microrganismi, solitamente lieviti e batteri, che fermentano ulteriormente zuccheri e amminoacidi, contribuendo al profilo aromatico caratteristico del prodotto.



Tempeh

Il tempeh si produce inoculando semi di soia cotti con *Rhizopus oligosporus*. I semi vengono compattati in stampi e lasciati fermentare per uno o due giorni, a seconda della consistenza e del sapore desiderati.

Durante la fermentazione, il micelio del fungo compatta i semi formando un blocco solido.

La fermentazione non solo lega i semi tra loro, ma scompone anche parte dei carboidrati complessi e delle proteine, rendendoli più digeribili e migliorando il sapore finale.



Fermentazione spontanea

+

- Complessità organolettica data dal contributo di popolazioni autoctone
- In grado di rispettare e contribuire a tratti specifici artigianali e locali

-

- Difficoltà di controllo
- Materie prime di ottima qualità
- È necessaria la selezione della materia prima

Fermentazione inoculata

+

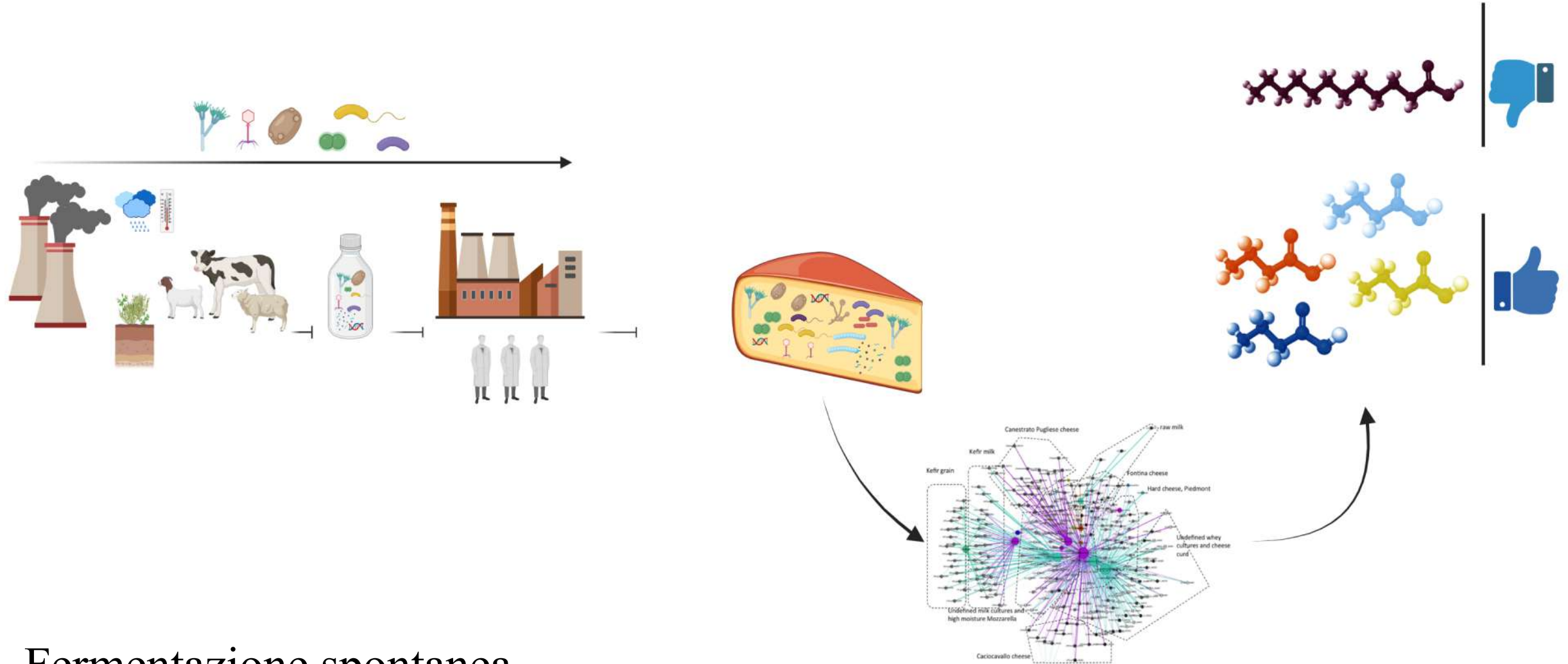
- Facile controllo della fermentazione
- Qualità costante negli anni
- Processo che arriva a fine fermentazione

-

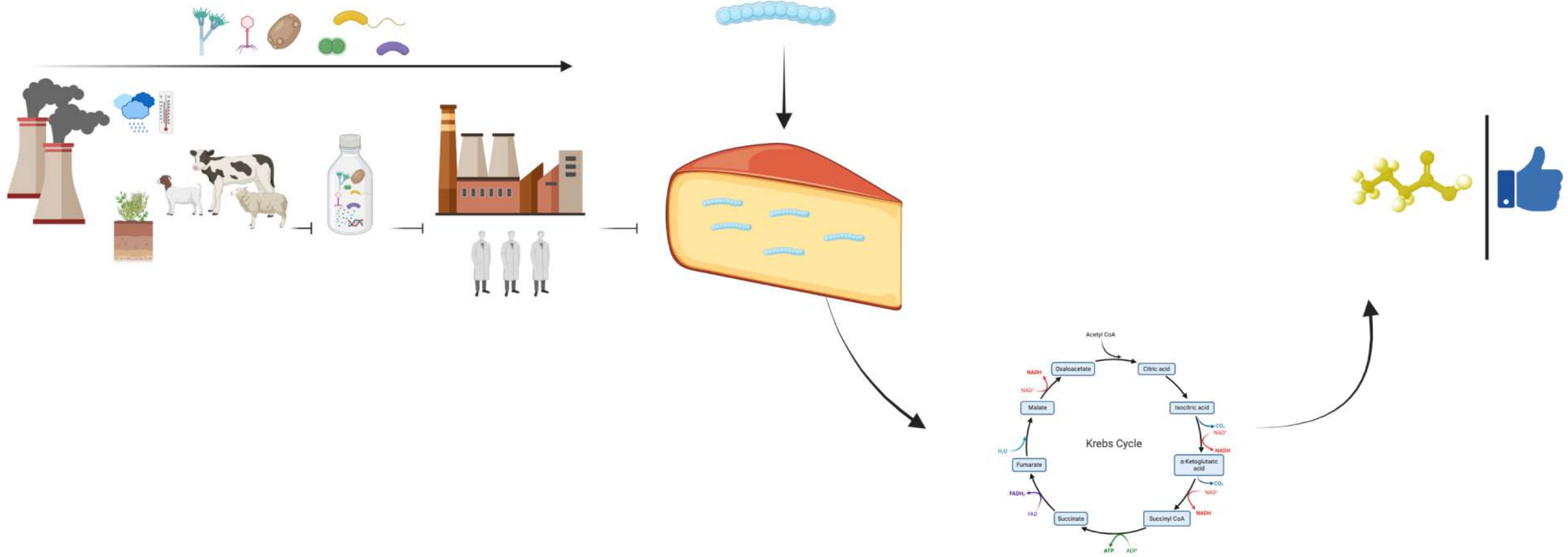
- Appiattimento dei profili organolettici
- Purezza e rispetto delle norme di legge per gli starter
- Performance

Figura 25.2 Elementi di forza e di debolezza delle fermentazioni spontanee e inoculate.

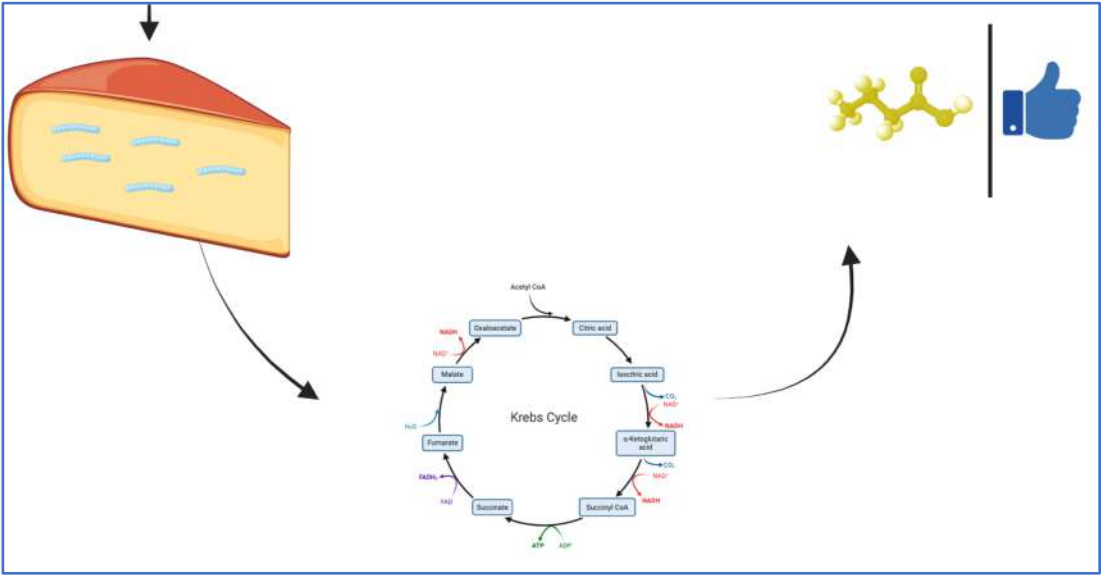
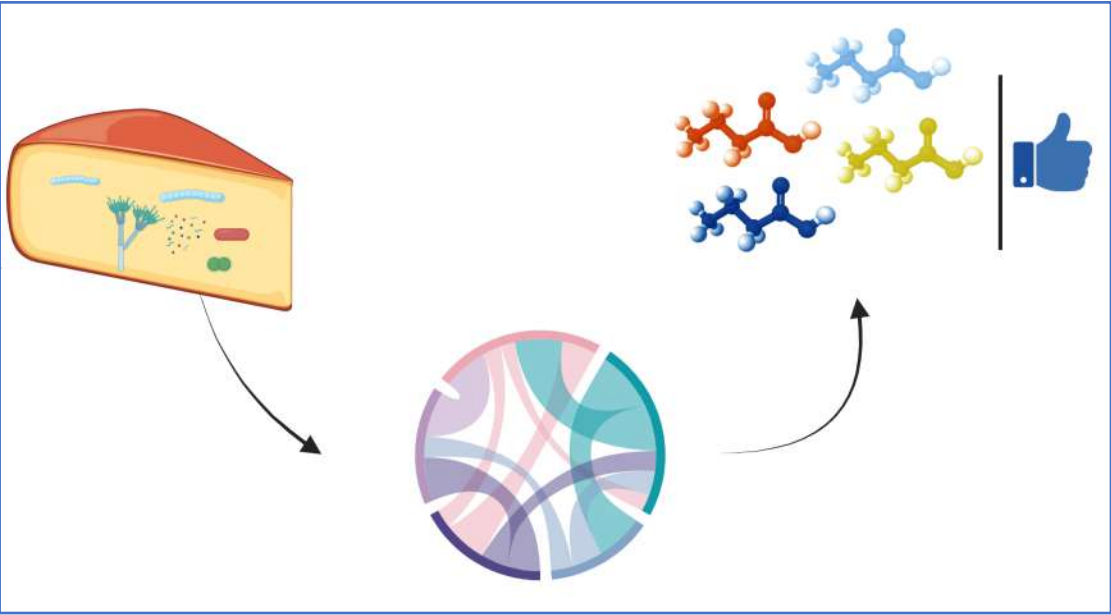
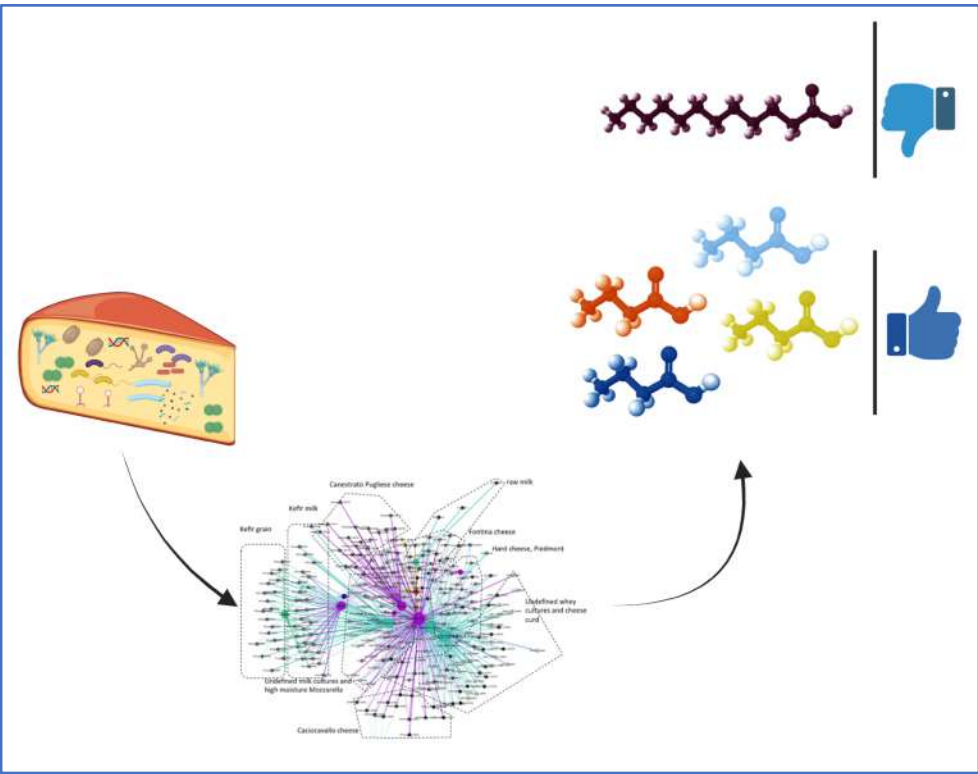
Da un singolo ceppo ad una SynComs



Fermentazione spontanea



Starter Culture



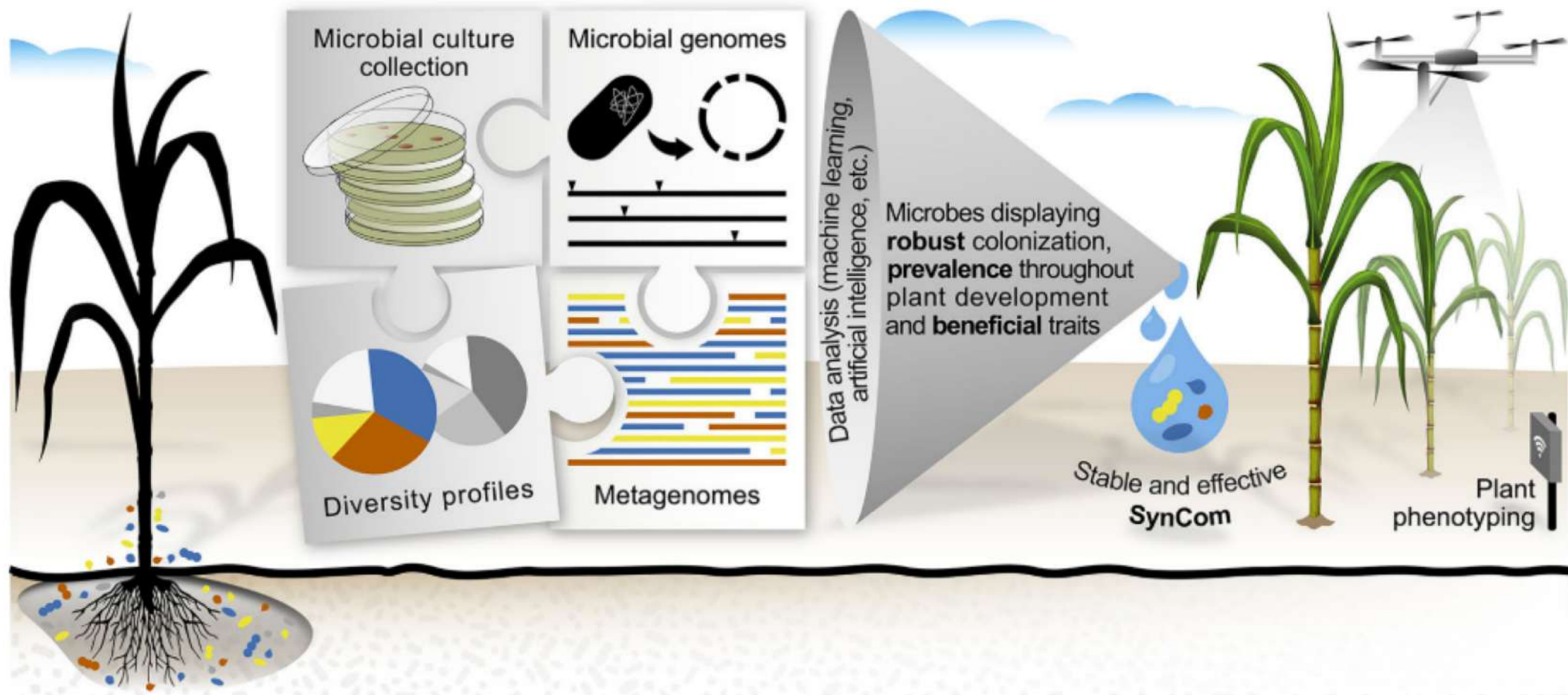
SynComs

Le comunità microbiche sintetiche (*SynComs*) sono consorzi di microrganismi progettati per mimare, su una certa scala, la funzione e la struttura osservate del microbioma in condizioni naturali.

“ridurre la complessità della comunità microbica, mantenendo alcune delle interazioni originali tra i microrganismi e gli ospiti, offrendo un repertorio di funzioni che non sarebbe raggiungibile da un singolo microbo”.

Il principale vantaggio delle SynComs risiede nella possibilità di personalizzare le comunità utilizzando concetti dall'ecologia microbica e dalla genetica, con caratteristiche definite e prevedibili.

Aggiungendo, rimuovendo o sostituendo microrganismi in una formulazione di SynCom, è possibile approfondire il ruolo di ciascun membro microbico, così come i fattori che governano l'assemblaggio della comunità.



I ruoli dei SynComs includono:

- Co-metabolismo, che implica il metabolismo microbico di molecole derivate dalla matrice.
- Fermentazione, che è la produzione diretta di composti da parte dei microrganismi.

Design & applicazioni di SynComs

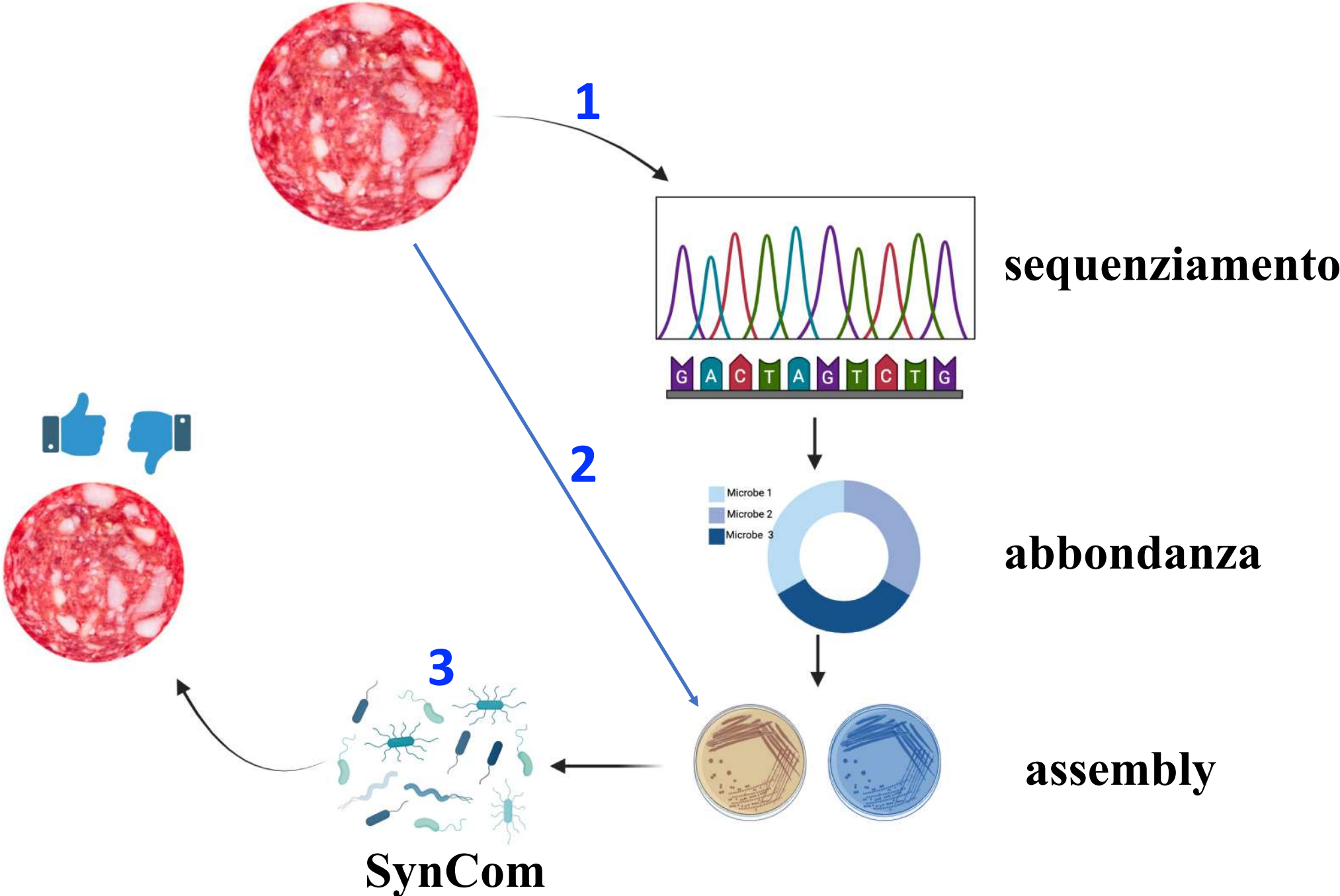
Assemblaggio di SynComs basato sull'abbondanza (approccio top-down)

Il design top-down identifica i microrganismi più abbondanti e assembla un sottoinsieme che cattura la diversità del microbiota nativo dell'ospite.

Questa strategia si basa principalmente sull'abbondanza relativa delle specie microbiche nell'ospite, determinata grazie ai progressi nelle tecniche di sequenziamento.

APPLICAZIONE: Costruire un SynCom con un numero minimo di membri per individuare le specie rilevanti con le funzioni desiderate.

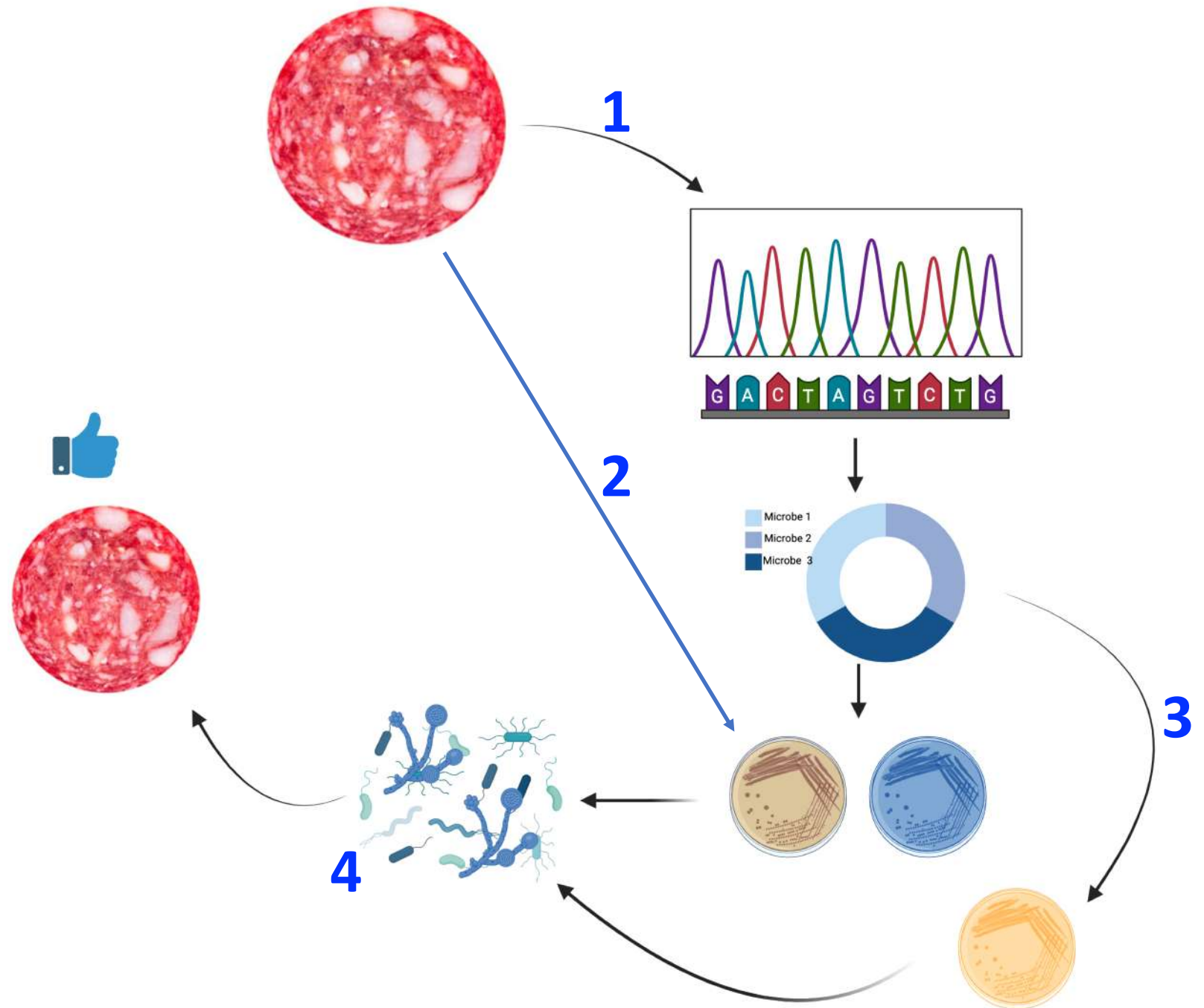
top-down



top-down approach: iteration

Tuttavia, ci sono limitazioni a questa strategia basata sull'abbondanza, sia da un punto di vista compositivo che dello sviluppo.

Dopo aver inoculato il SynCom, la composizione microbica differisce da quella inizialmente progettata a causa del microambiente specifico dell'ospite.

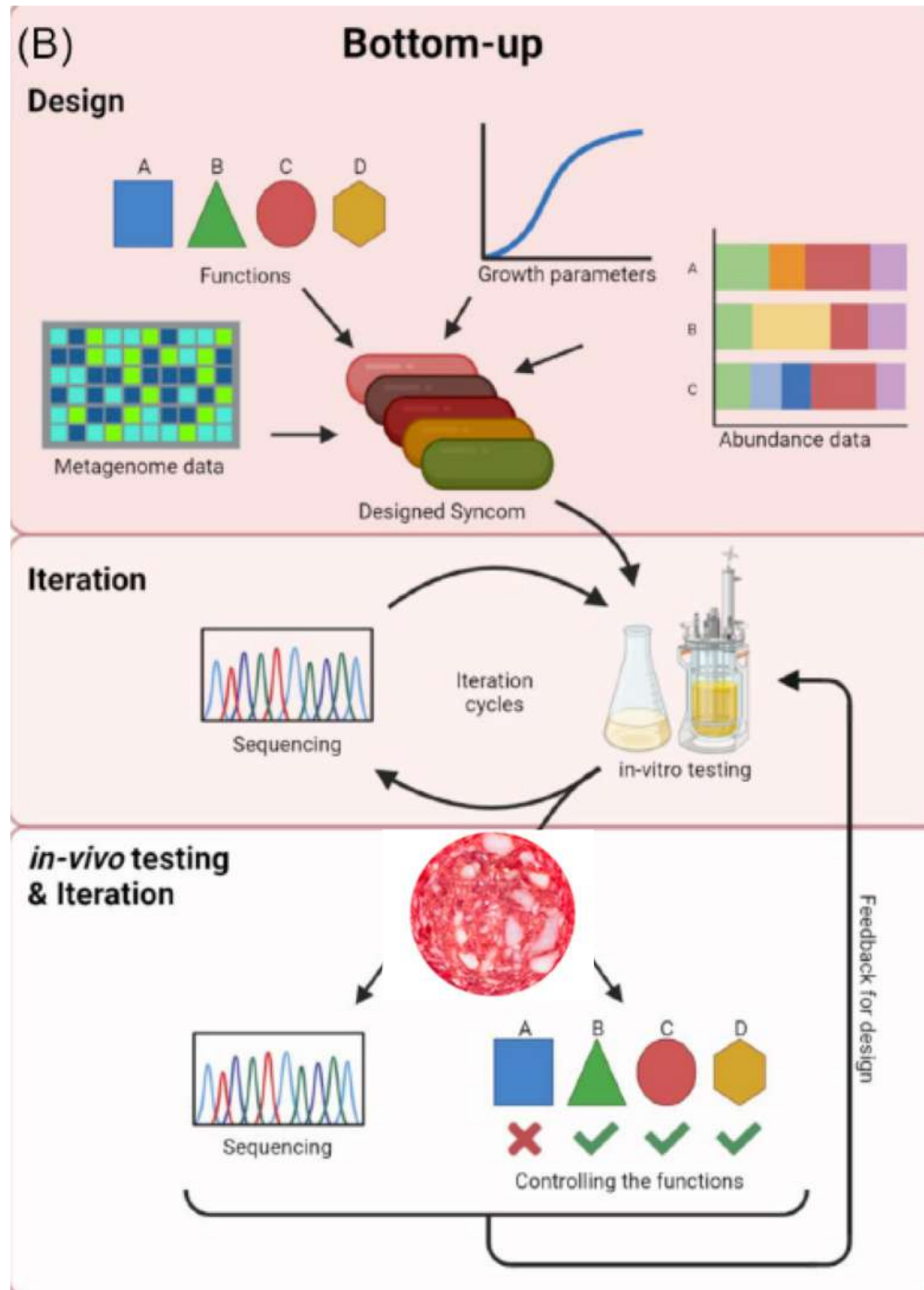


Assemblaggio orientato alle funzioni di SynComs (bottom-up)

La progettazione bottom-up si concentra sulla valutazione della funzione delle singole specie, seguita dall'assemblaggio di specie con funzioni progettate per raggiungere proprietà specifiche.

L'assemblaggio di questi SynComs è altamente versatile in termini di dimensioni e diversità dei membri batterici poichè alcune funzioni possono essere realizzate solo dalla combinazione di più specie batteriche.

bottom-up



Produzione di un SynCom

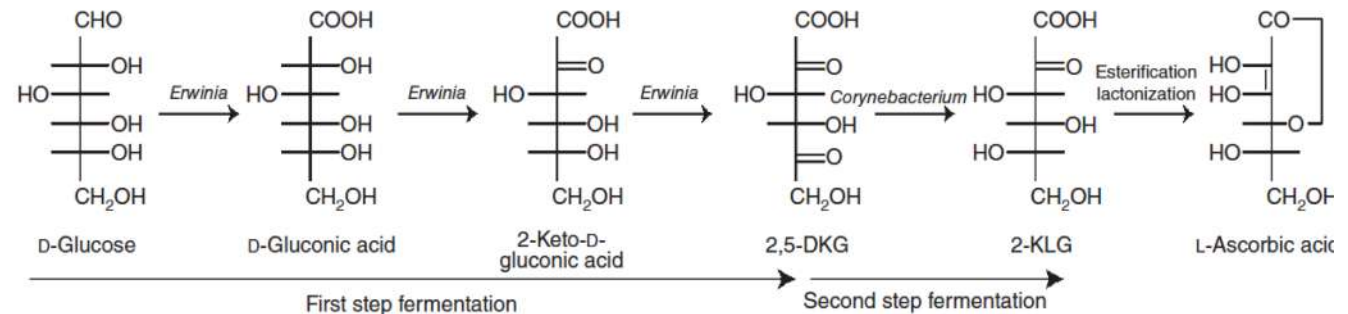
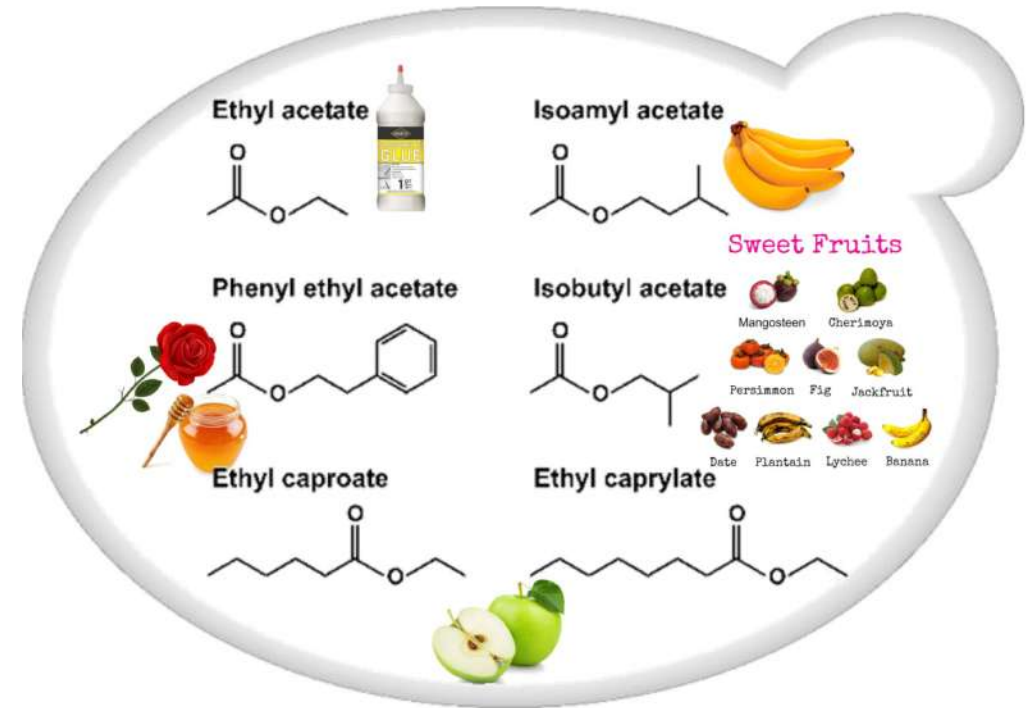
I SynCom vengono prodotti coltivando individualmente tutti i membri (quando raggiungono la fase esponenziale).

Tuttavia, le differenze intrinseche tra i microrganismi rendono difficile trovare un momento sincrono per la fase esponenziale.

Un modo per superare questo problema è utilizzare tecniche di co-coltivazione, in cui le condizioni sono progettate affinché diversi ceppi batterici possano essere preculturati insieme.

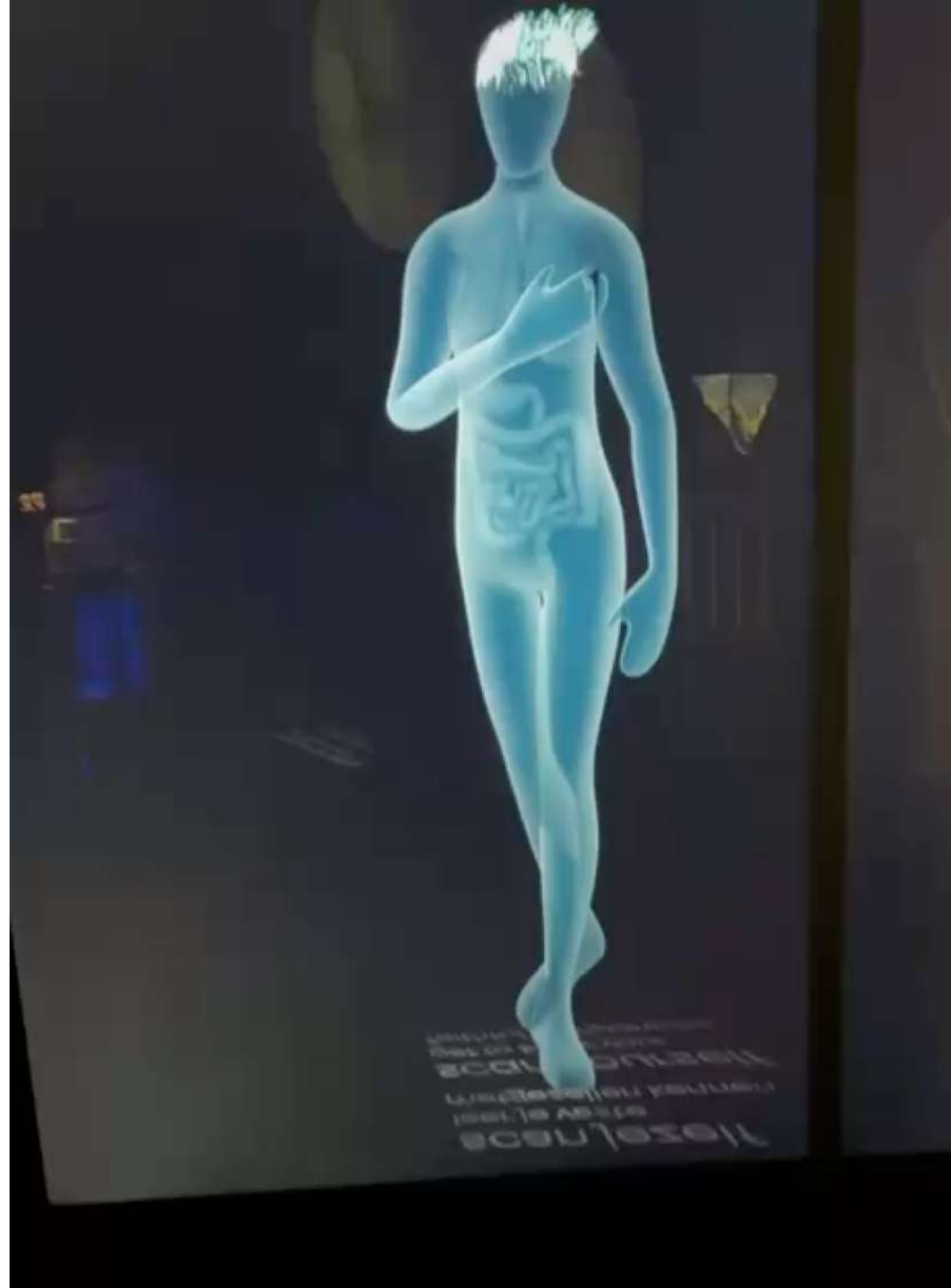
Le SynCom svolgono un ruolo centrale nella produzione di un'ampia gamma di:

- metaboliti primari e secondari
- Novel foods
- sostanze chimiche industriali
- enzimi
- antibiotici
- etc....



Probiotici, prebiotici e postbiotici

Human Microbiome



PELLE	
T	<i>P. acnes</i>
A	<i>Malassezia</i> spp.
X	<i>S. epidermidis</i>
A	<i>S. aureus</i>
A	<i>S. pyogenes</i>
M	Trigliceridi (sebo)
E	Fermentazione del glicerolo
T	Acido propionico
	Acido butirrico

CAVITA' ORALE	
T	<i>S. mutans</i>
A	<i>Slackia</i> spp.
X	<i>P. gingivalis</i>
A	<i>Actinomyces</i> spp.
A	<i>Propionibacterium</i> spp.
M	Glicoproteine - Nitrosammine
E	Batteriocine – Actelaldeide
T	Ipotiocianito -Ossido nitrico

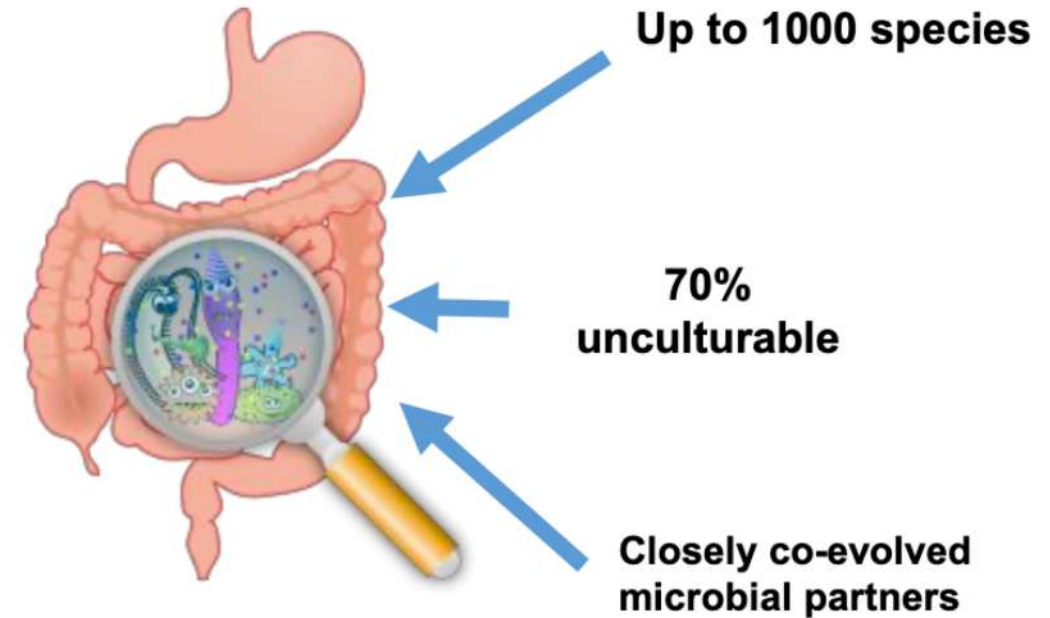
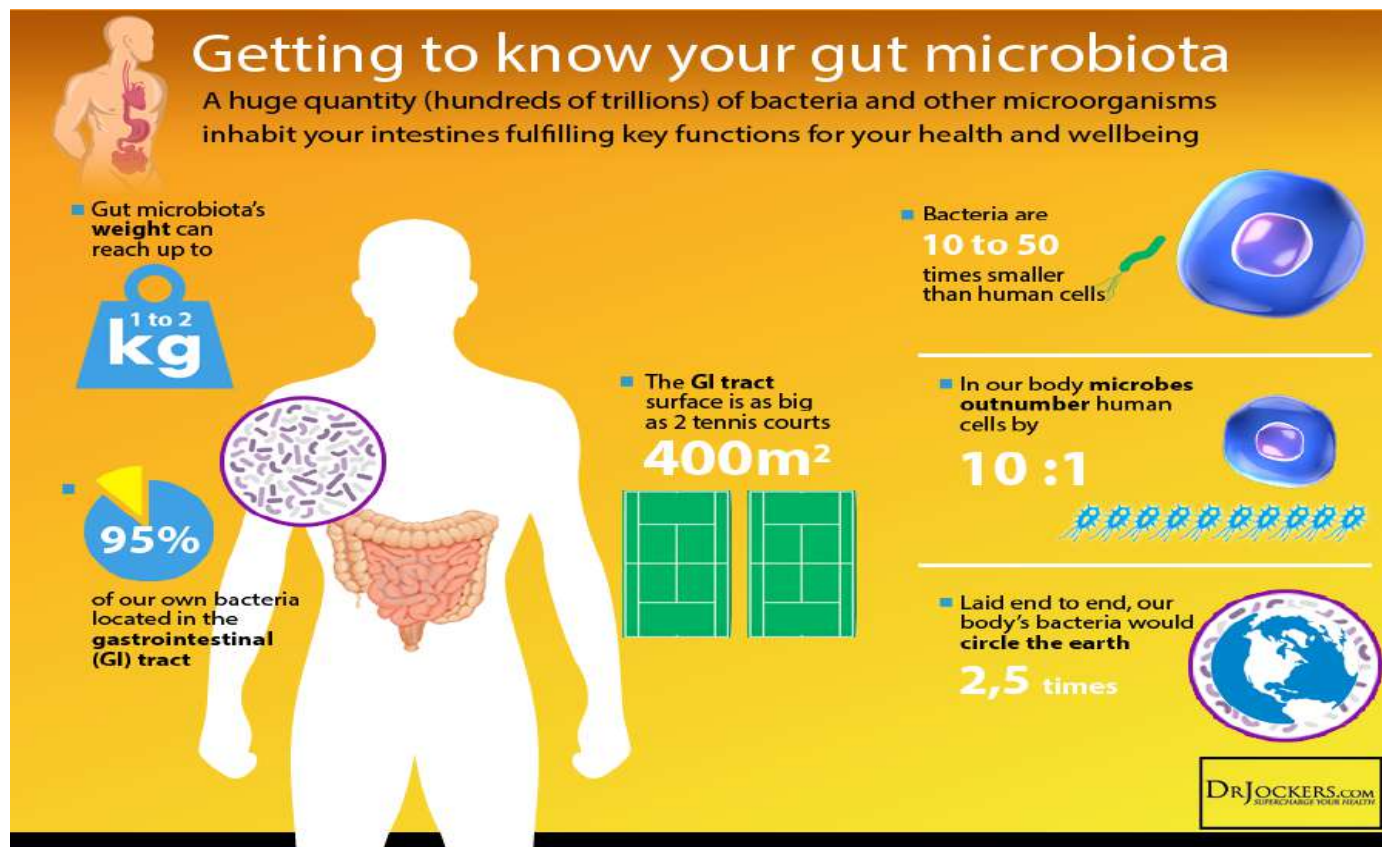
Tratto RESPIRATORIO	
T	<i>A. fumigatus</i>
A	<i>Prevotella</i> spp.
X	<i>Haemophilus</i> spp.
A	<i>Malassezia</i> spp.
M	Corticosteroidi
E	Citochine infiammatorie (IgE)
T	

Tratto GASTROINTESTINALE	
T	<i>Akkermansia muciniphila</i>
A	lattobacilli
X	<i>Bifidobacterium</i> spp.
A	<i>B. wadsworthia</i>
M	Glicogeno - succinato
E	Acido propionico – Acidi biliari
T	Acido butirrico – ossido nitrico
	Acido acetico

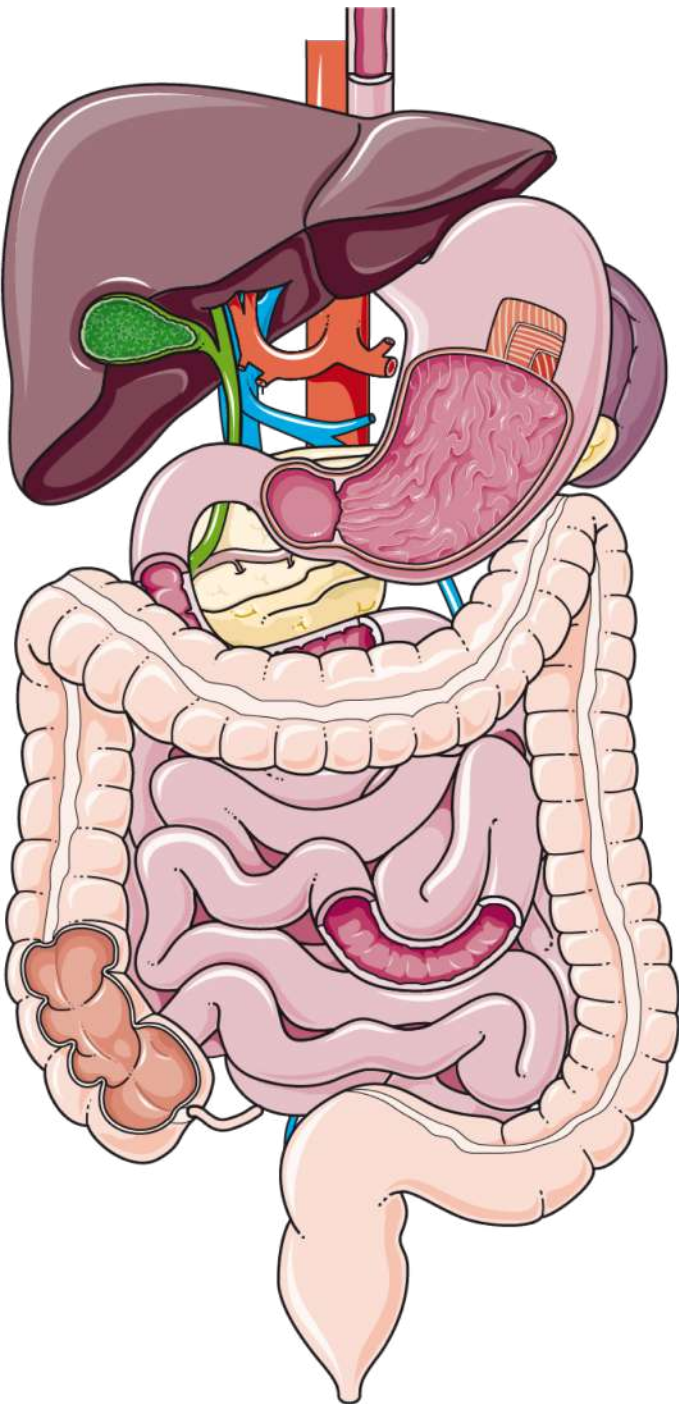
Apparato UROGENITALE	
T	lattobacilli
A	<i>Gardnerella</i> spp.
X	<i>Porphyromonas</i> spp.
A	<i>Prevotella</i> spp.
M	Glicoproteine - Nitrosammine
E	Batteriocine – Actelaldeide
T	Ipotiocianito -Ossido nitrico

Il microbioma associato al corpo umano (pelle, mucose del tratto respiratorio, cavità orale, tratto gastrointestinale, urinario e genitale) ha un'influenza significativa sullo sviluppo, sulla fisiologia e sull'immunità dell'essere umano.

Il corpo umano ospita miliardi di microrganismi, localizzati soprattutto nel tratto gastrointestinale (circa il 99%, corrispondenti a 2-3 kg di peso in un adulto). Si stima che per ogni cellula umana ci siano quasi 10 cellule microbiche e per ogni gene umano quasi 100 geni microbici.



O'Hara & Shanahan, 2006 EMBO Reports
Marchesi et al 2016 Gut



Stomaco

- pH 1-3
- $10^1 - 10^3$ UFC/mL
- Lactobacilli, *Streptococcus*, *Staphylococcus*, Enterobacteriaceae

Duodeno

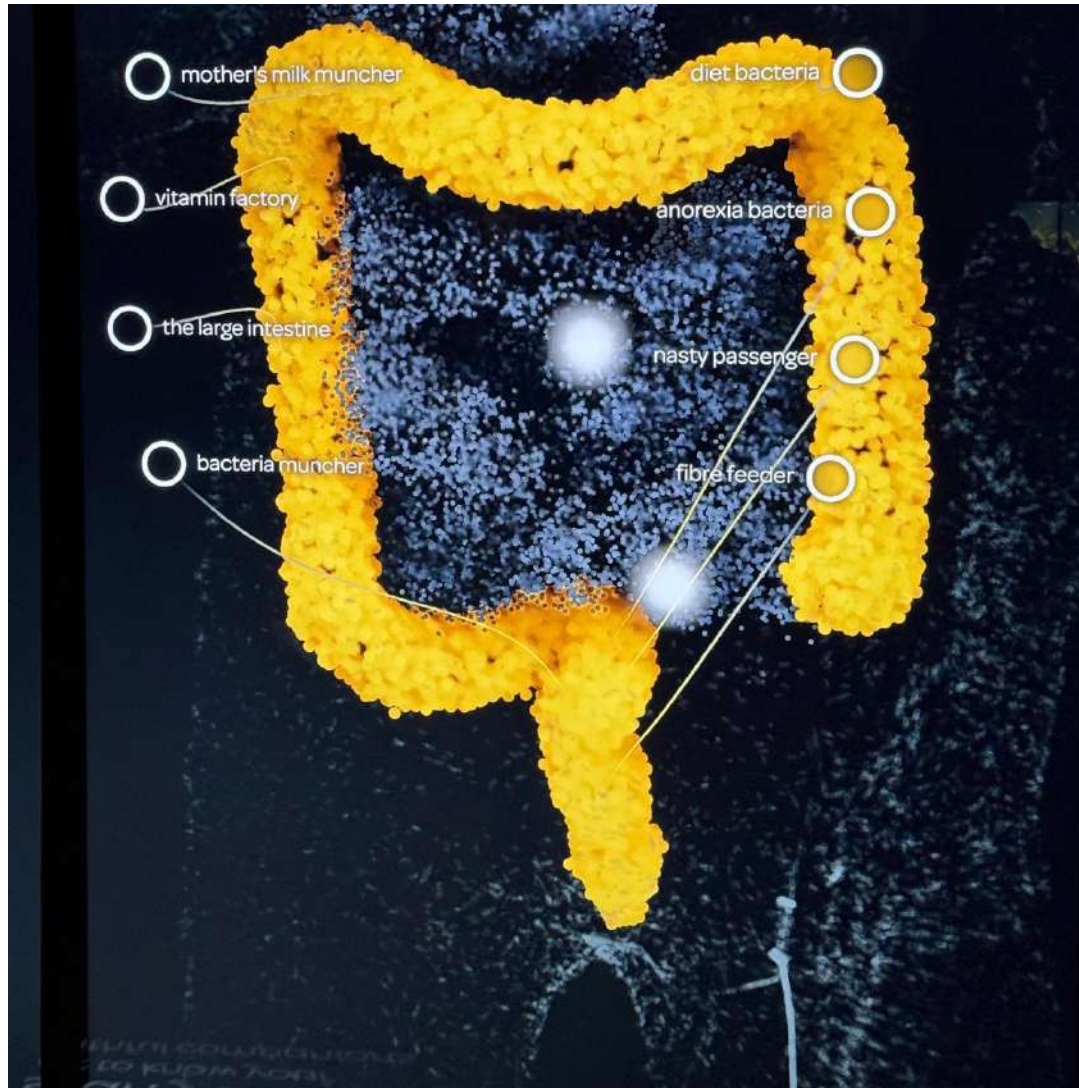
- pH 6-7
- $10^1 - 10^3$ UFC/mL
- pO_2 33 mm Hg
- Lactobacilli, *Streptococcus*, *Staphylococcus*, Enterobacteriaceae

Digiuno & Ileo

- pH 6-7
- $10^4 - 10^7$ UFC/mL
- pO_2 33 mm Hg
- *Bifidobacterium*, *Bacteroides*, Lactobacilli, *Streptococcus*, Enterobacteriaceae

Colon

- pH 7
- $10^{10} - 10^{11}$ UFC/mL
- pO_2 <33 mm Hg
- *Bacteroides*, *Clostridium*, *Blautia*, *Ruminococcus*, Lactobacilli, *Peptostreptococcus*, *Streptococcus*, *Bifidobacterium*, Enterobacteriaceae



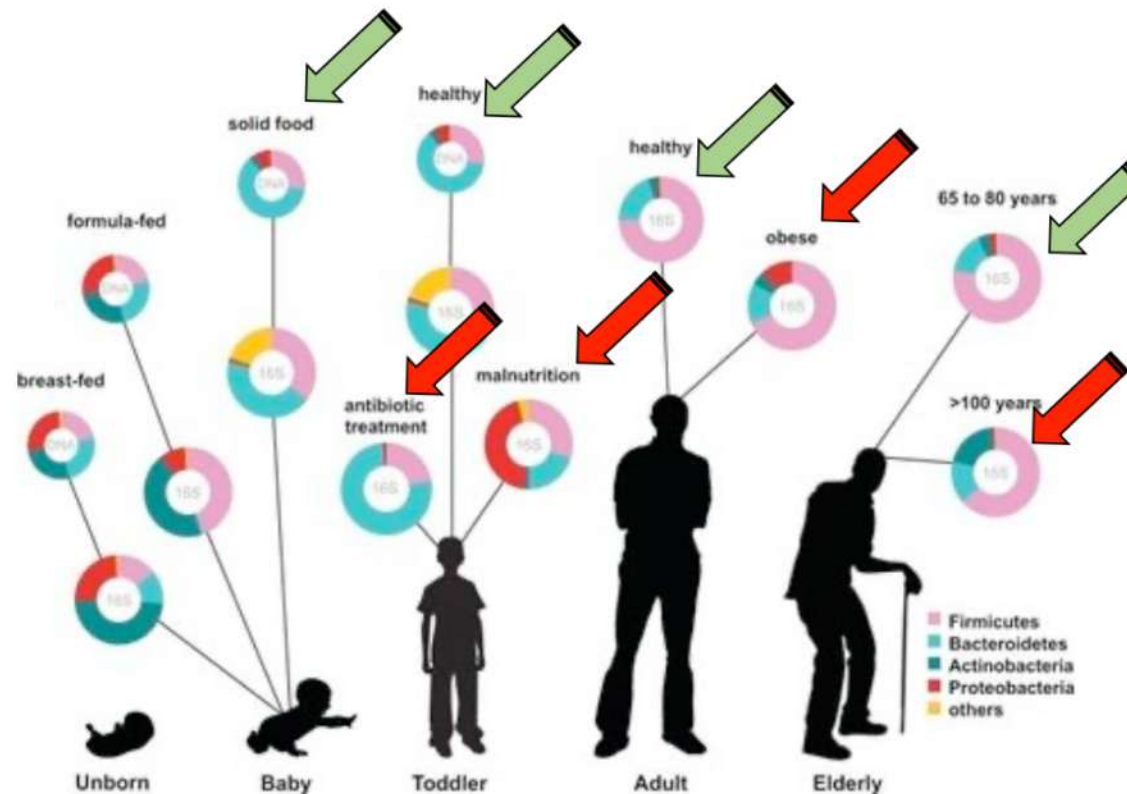
il genoma umano è composto da circa **23.000 geni**, mentre il **microbioma** ne codifica **oltre 3 milioni**, in grado di produrre migliaia di metaboliti.

Questo significa che nel corpo umano esiste un vero e proprio **superorganismo** che svolge un ruolo fondamentale.

Ognuno possiede un **microbiota unico**, come un'impronta digitale: la composizione del microbiota intestinale è infatti **prevalentemente specifica per ogni individuo**, come una vera e propria carta d'identità biologica.

Il microbioma intestinale svolge ruoli importanti:

- Regola l'immunità dell'ospite, le funzioni endocrine intestinali e la segnalazione neurologica.
- Modifica l'azione e il metabolismo dei farmaci.
- È direttamente coinvolto nella digestione degli alimenti, nell'eliminazione delle tossine e nella produzione di numerosi composti che influenzano lo stato di salute dell'ospite.



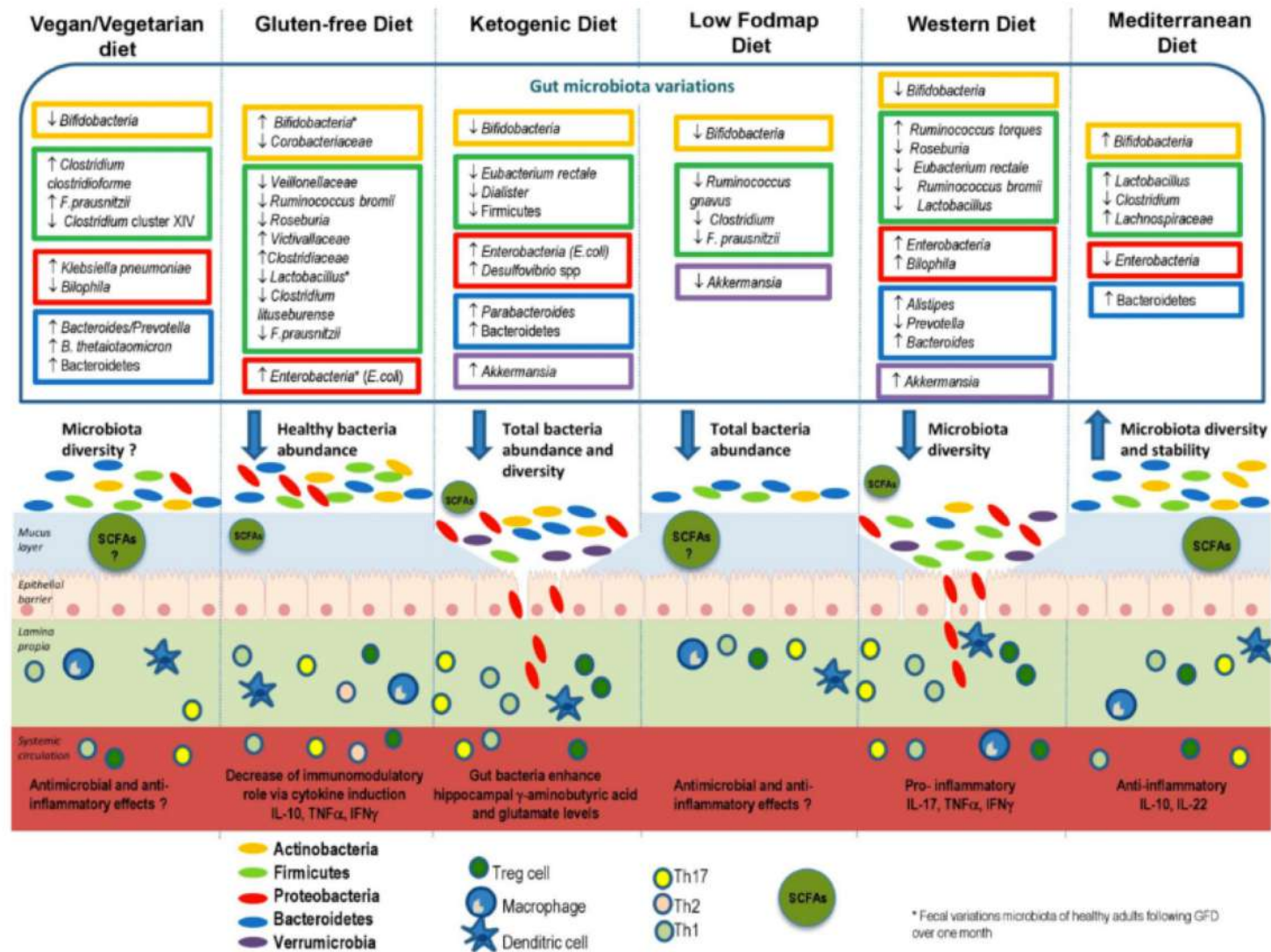
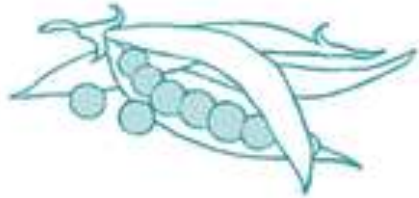


Figure 2. Effects of different types of diet on gut microbiota, mucus layer, and immune cells. Bacteria species variations are indicated in rectangular frames. The arrows pointing up or down respectively indicate an increase or decrease of bacteria abundance. Each color of the rectangular frames represents one phylum: yellow for Actinobacteria, green for Firmicutes, red for Proteobacteria, blue for Bacteroides, and purple for Verrumicrobia. In the illustration of the intestinal epithelium, oval shapes represent microbiota. Each color represents one phylum. Abbreviations: FODMAP: fermentable oligo-, di-, mono-saccharides, and polyols; GFD: gluten-free diet; SCFAs: short-chain fatty acids.

Plant Protein



Animal Protein



→
↑*Bifidobacterium*
↑*Lactobacillus*
↓*Bacteroides*
↓*Clostridium perfringens*

→ ↑SCFA's

↑Gut Barrier
↑Tregs
↓Inflammation

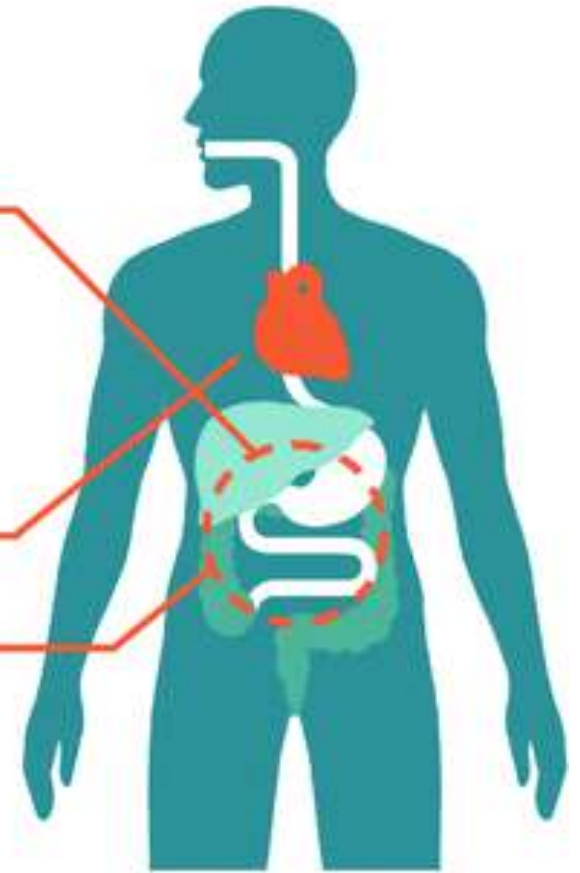
→
↑*Bacteroides*
↑*Alistipes*
↑*Bilophila*
↑*Ruminococcus*
↓*Bifidobacterium*

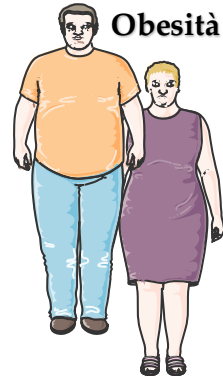
→ ↑TMAO

↓SCFA's

CVD

IBD





Obesità

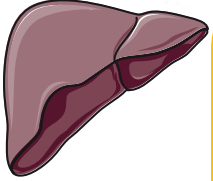
Caratteristiche dei taxa

- ↓ Rapporto tra Bacteroidetes e Firmicutes
- ↓ *Akkermansia muciniphila*
- ↓ *Bacteroides thetaiotaomicron*
- ↓ *Clostridium histolyticum*
- ↓ *Clostridium coccoides*
- ↑ *Dorea longicatena*
- ↑ *Eubacterium ventriosum*
- ↓ *Faecalibacterium prausnitzii*
- ↓ *Methanobrevibacter smithii*
- ↑ *Roseburia intestinalis*
- ↑ *Ruminococcus gnavus*
- ↑ *Ruminococcus torques*

Funzioni

- ↑ LGC: degradazione della β -glucuronide e degli aminoacidi aromatici
- ↑ HGC: produzione di acidi organici e H_2
- ↑ Sistema di fosfotransferasi
- ↓ Degradazione del glicosaminoglicano
- ↑ Sistema di trasporto della glutammina o del glutammato
- ↑ Biosintesi della fenilalanina, tirosina e del triptofano
- ↓ Degradazione della valina, leucina e isoleucina
- ↓ Superossido reduttasi

Malattie metaboliche del fegato

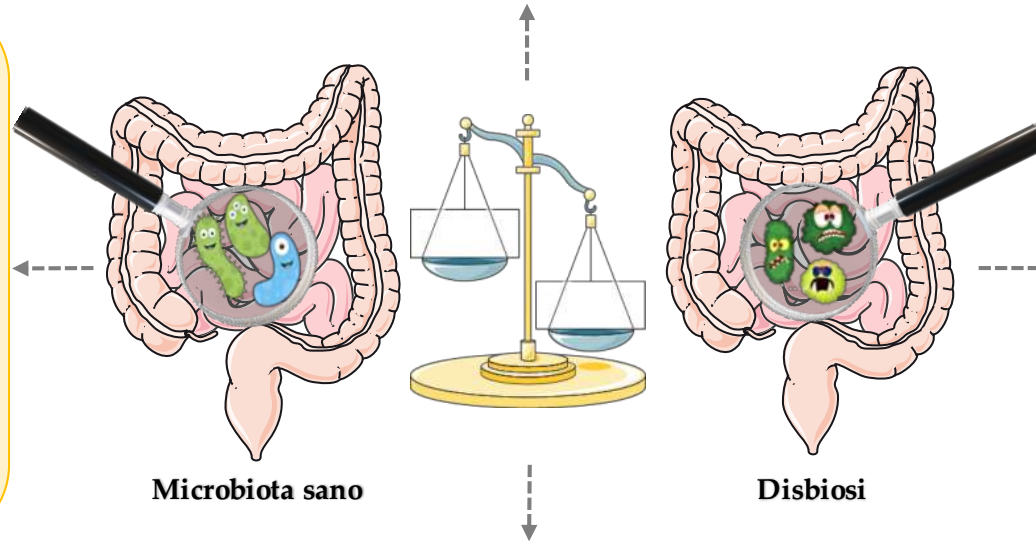


Caratteristiche dei taxa

- ↓ *Coprococcus comes*
- ↓ *Faecalibacterium prausnitzii*
- ↑ *Klebsiella pneumoniae*
- ↑ *Streptococcus anginosus*
- ↑ *Veillonella atypica*

Funzioni

- ↑ Danno ossidativo
- ↑ Biosintesi dell'acido γ -aminobutirrico
- ↓ Biosintesi dell'eme
- ↑ Denitrificazione
- ↑ Produzione di etanolo
- ↑ Biosintesi di lipopolisaccaridi e peptidoglicano
- ↑ Biosintesi di BCAAs e AAA



Microbiota sano

Disbiosi

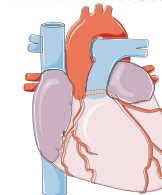
Caratteristiche dei taxa

- ↓ *Enterobacter aerogenes*
- ↓ *Escherichia coli*
- ↑ *Faecalibacterium prausnitzii*
- ↑ *Klebsiella* spp.
- ↑ *Ruminococcus gnavus*
- ↑ *Streptococcus* spp.

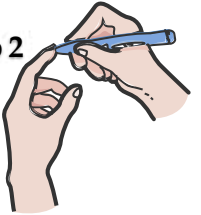
Funzioni

- ↓ Attività degli SCFAs
- ↑ TMA lisasi
- ↑ Sistema di fosfotransferasi
- ↓ Metabolismo delle vitamine
- ↑ Biosintesi dei lipopolisaccaridi
- ↑ Produzione di triptofano
- ↓ Metabolismo degli SCFA
- ↓ Produzione di butirato

Malattie cardio-metaboliche



Diabete di tipo 2



Caratteristiche dei taxa

- ↓ *Akkermansia muciniphila*
- ↑ *Bacteroides vulgatus*
- ↑ *Clostridium clostridioforme*
- ↑ *Clostridium hathewayi*
- ↓ *Clostridiales* sp. SS3/4
- ↑ *Prevotella copri*

Funzioni

- ↑ Trasporto trans membrana degli zuccheri
- ↑ Trasporto di BCAA
- ↓ Produzione di SCFA
- ↓ Metabolismo di cofattori e vitamine

Microbiome-directed interventions

Untargeted



Exercises



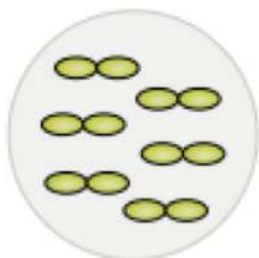
Individualized
nutrition



Faecal microbiota
transplantation



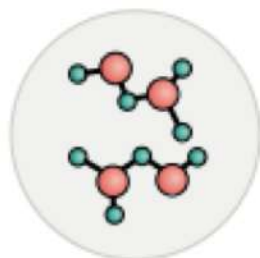
Prebiotics



Probiotics



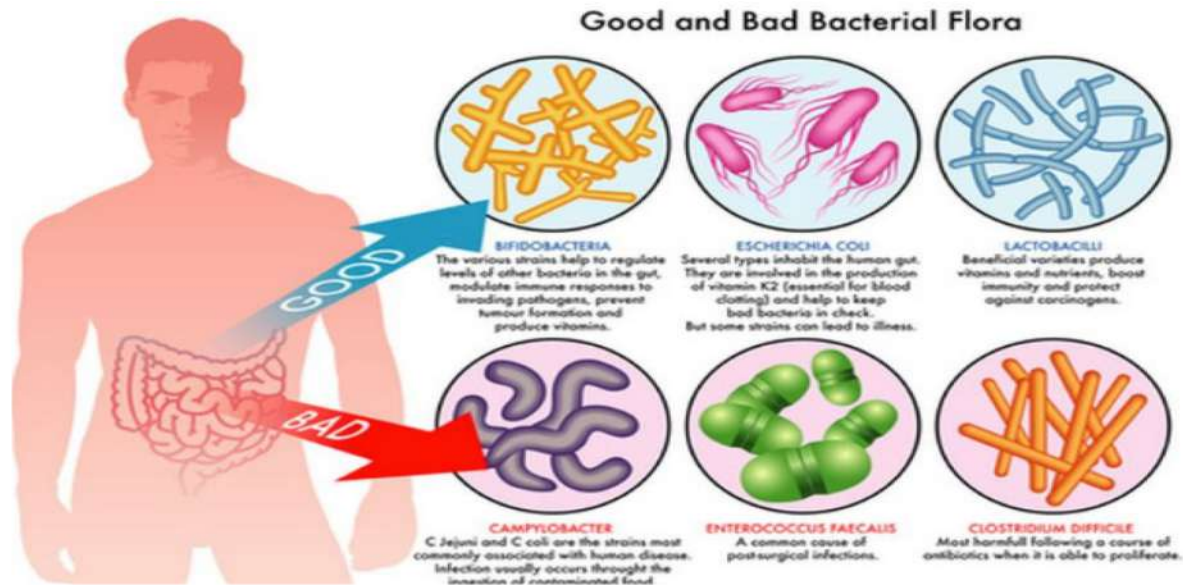
Synbiotics



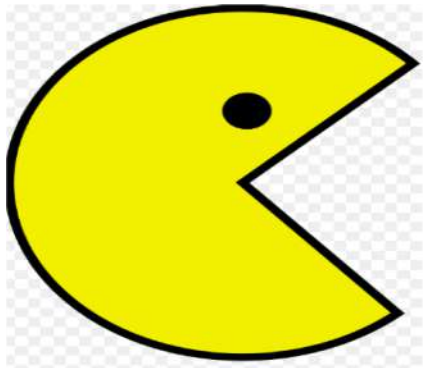
Postbiotics

General improvement in
microbial composition and functions

Probiotici



Ruolo dei probiotici



Intestino sano

Probiotici

“microrganismi vivi che, somministrati in quantità adeguata, apportano un beneficio alla salute dell’ospite” (OMS)

- devono essere vivi al momento del consumo
- presenti in numero pari ad almeno un miliardo per grammo
- devono passare indenni attraverso i processi digestivi

Il termine probiotico deriva dal greco “pro” e “bios” e significa “a favore della vita“

Esercitare effetti positivi sulla flora batterica (o microbiota) intestinale.

Multistrains

Produrre metaboliti benefici

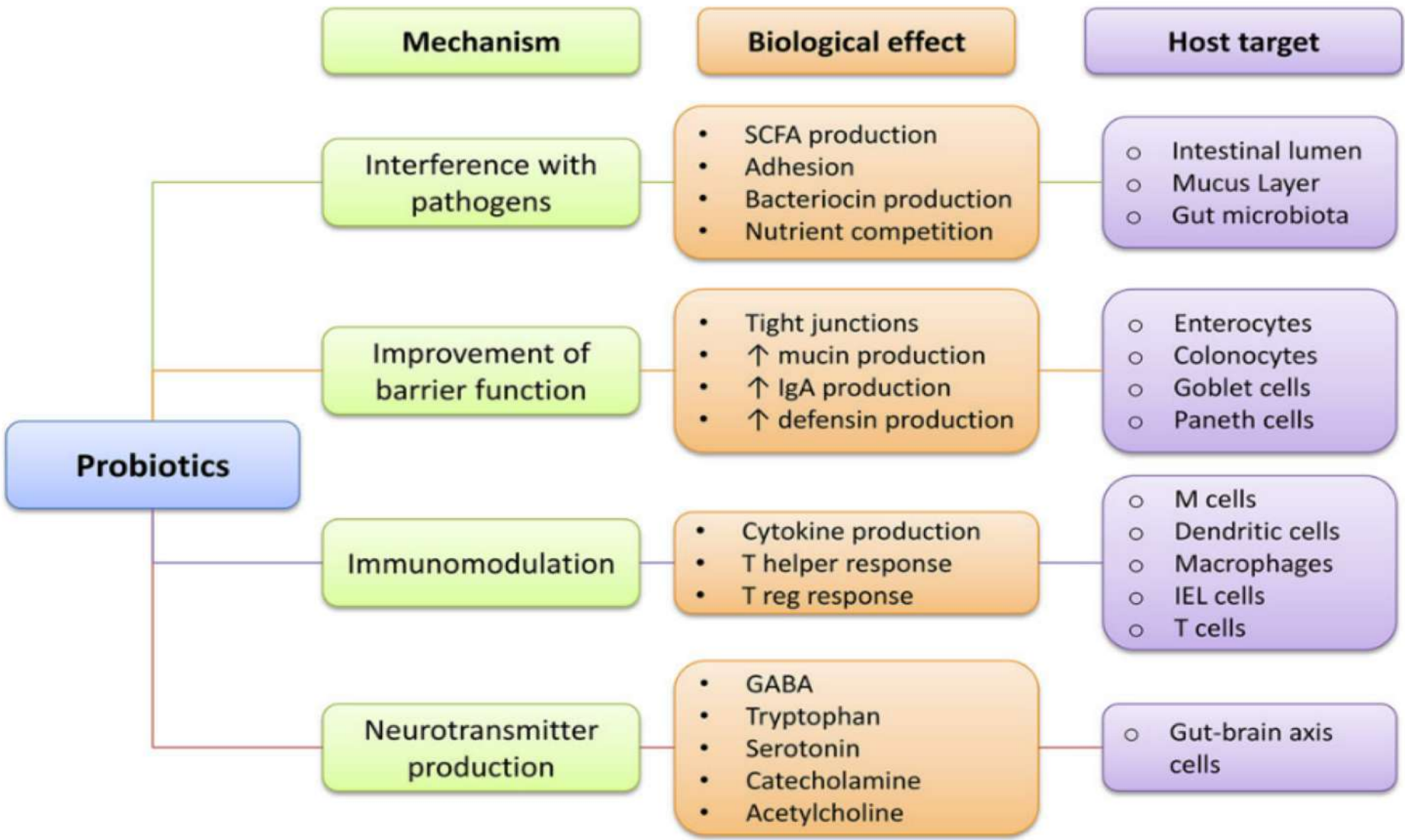


Figure 2. Diagram representing the main mechanisms of action of probiotics. Mechanisms, biological processes, and host cells responsible for the interaction are shown color coded.

Meccanismi d'azione più diffusi

- Esclusione competitiva di agenti patogeni
- Normalizzazione del microbiota alterato
- Produzione di SCFA
- Regolazione del transito intestinale

Meccanismi d'azione più frequenti

- Sintesi vitaminica
- Metabolismo dei sali biliari
- Potenziamiento della barriera intestinale

Meccanismi d'azione ceppo-specifici

- Produzione di specifiche sostanze bioattive
- Effetti endocrini
- Effetti neurologici

Colture Probiotiche

L'incorporazione di batteri probiotici come colture aggiunte in diversi prodotti rappresenta un tema di grande rilevanza, con importanti implicazioni industriali e commerciali.

Gli alimenti funzionali sono alimenti simili a quelli convenzionali, consumati come parte della dieta quotidiana, ma che presentano effetti metabolici o fisiologici comprovati, utili per mantenere un buon stato di salute fisica e mentale. Contribuiscono inoltre a ridurre il rischio di malattie croniche degenerative, oltre a svolgere le normali funzioni nutrizionali dell'alimento.

Definizione FAO/WHO	<ul style="list-style-type: none"> • “Microrganismi vivi che, se somministrati in quantità adeguate, conferiscono un beneficio per la salute dell’ospite”
Requisiti	<ul style="list-style-type: none"> • Deve essere usato tradizionalmente per integrare la microflora intestinale dell’uomo • Deve essere considerato sicuro per l’impiego nell’uomo. I microrganismi utilizzati per la produzione di alimenti non devono essere portatori di antibioticoresistenza acquisita e/o trasmissibile • Deve essere identificato tassonomicamente (genere, specie, sottospecie – se applicabile – e designazione alfanumerica che individua un ceppo specifico) e depositato presso collezioni internazionali
Quantità minima sufficiente per ottenere una temporanea colonizzazione dell’intestino	<ul style="list-style-type: none"> • 10^9 cellule vive
L’etichetta deve riportare	<ul style="list-style-type: none"> • La quantità di cellule vive per ogni ceppo • La modalità di conservazione • L’identificazione di ogni ceppo

Le specie o ceppi di **Lactobacilli** e **Bifidobatteri** più comunemente sfruttati hanno ottenuto lo status di **GRAS** (Generally Regarded as Safe) negli Stati Uniti o è stata loro concessa l'autorizzazione di **Presunzione Qualificata di Sicurezza** (*Qualified Presumption of Safety*, **QPS**) dall'Autorità Europea per la Sicurezza Alimentare (**EFSA**).

Bifidobacterium

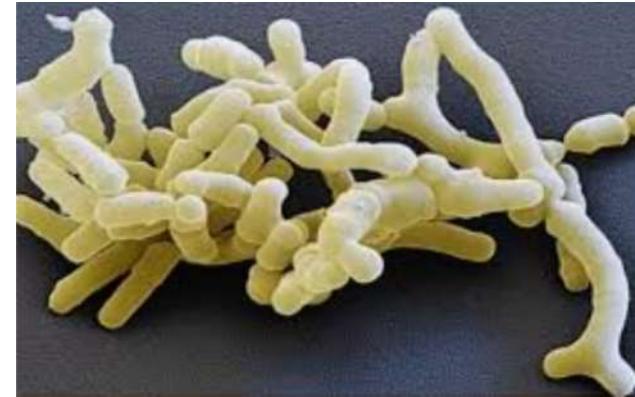
Bifidobacterium sono batteri Gram + a forma di bastoncello, che possono variare per dimensioni e morfologia e trovarsi isolati oppure in catene. Non sporigeni, non mobili, mesofili e anaerobi, anche se alcune specie possono tollerare l'ossigeno in presenza di anidride carbonica (CO₂).

Temperatura ottimale: tra 37 e 41 °C

Intervallo di crescita: da 25 a 45 °C

I *Bifidobacterium* fermentano il glucosio producendo acido lattico e acido acetico senza formazione di CO₂. Nel tratto intestinale svolgono un ruolo benefico per la salute, contribuendo all'equilibrio del microbiota e alla funzione digestiva.

I *Bifidobacterium* sono ampiamente utilizzati nella produzione di alimenti fermentati a base di latte, come: yogurt, formaggi, kefir etc..



Non hanno una funzione pro-tecnologica
Difficili da coltivare (anaerobi obbligati)
Utilizzati in alimenti e integratori



Attività nell'intestino umano (adulto):

- Modulazione della risposta immunitaria
- Svolgimento di attività metaboliche utili al mantenimento dell'omeostasi intestinale
- Inibizione dello sviluppo di patogeni nel tratto gastrointestinale

Popolazioni dominanti nell'intestino umano nei primi due anni di vita

Bifidobacterium (B.) infantis

B. adolescentis

B. bifidum

B. longum



Fanno parte del Milk-Oriented Microbiome (MOM): popolazioni microbiche la cui presenza è regolata dal latte materno ed in particolare dai differenti Human Milk Oligosaccharides (HMOs)

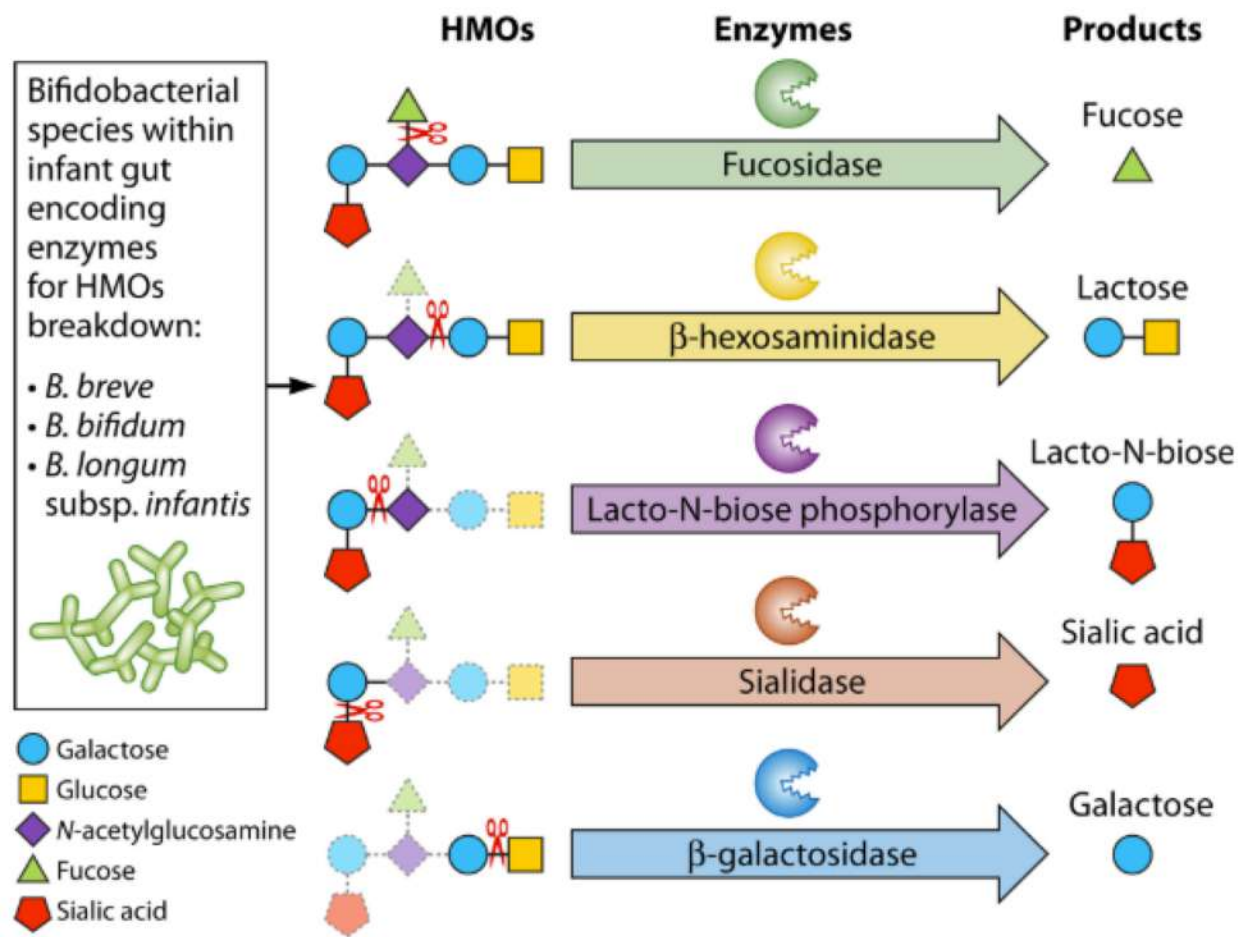


FIG 5 Chemical structures of human milk oligosaccharides and related enzymatic degradation. On the left are listed the bifidobacterial species that encode enzymes for HMO breakdown retrieved into the infant gut, while on the right are reported the products of the enzymatic reactions.

NEXT-GENERATION PROBIOTICS

2000–2016: usando il termine "probiotico" sono stati trovati 9.811 articoli contenenti la parola *Lactobacillus* e 3.463 contenenti la parola *Bifidobacterium*

Pochi articoli menzionano generi probiotici non canonici (*Clostridium* o *Bacteroides*),

Inoltre pochi articoli menzionano *Faecalibacterium* o *Akkermansia*.

CRITICAL REVIEWS IN FOOD SCIENCE AND NUTRITION
<https://doi.org/10.1080/10408398.2018.1517725>

REVIEW

A next generation probiotic, *Akkermansia muciniphila*

Qixiao Zhai^{a,b,c,*}, Saisai Feng^{a,b,*}, Narbad Arjan^{c,d}, and Wei Chen^{a,b,e,f,g}

nature
microbiology

PERSPECTIVE

PUBLISHED: 25 APRIL 2017 | VOLUME: 2 | ARTICLE NUMBER: 17057

Next-generation probiotics: the spectrum from probiotics to live biotherapeutics

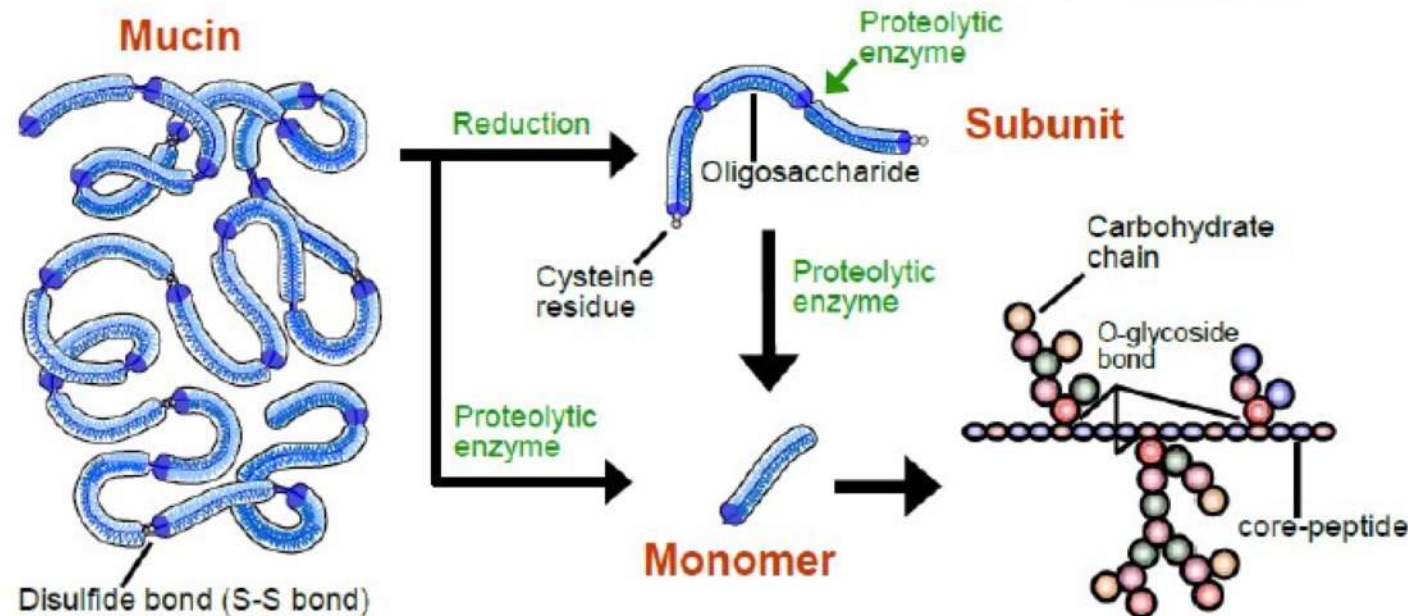
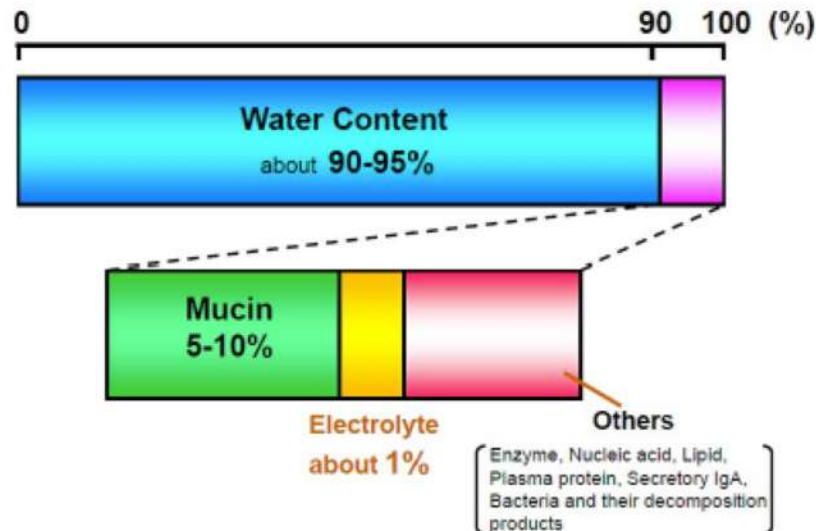
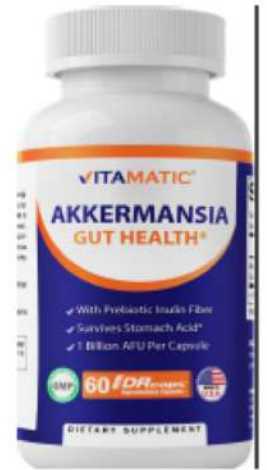
Paul W. O'Toole^{1*}, Julian R. Marchesi^{2,3} and Colin Hill¹

Next Generation Probiotics (NGPs)

NGPs: gruppo di batteri benefici di nuova generazione (solitamente di origine intestinale) attualmente in fase di sviluppo e prodotti a fini farmaceutici (non in alimenti)

Es: *Akkermansia muciniphila*

- Batterio del muco intestinale che vive in simbiosi con uomo
- Utilizzo del muco come unica fonte di carbonio
- Presenza correlata ad omeostasi intestinale ed assenza di patologie



Altri probiotici attualmente disponibili sul mercato includono *Saccharomyces*, *Candida*, *Bacillus spp.*, *Escherichia coli*, enterococchi e *Weissella spp.*

I generi probiotici "**Non-Canonici**" o di "**Prossima Generazione**" (*Next Generation Probiotics*) sono:

- *Clostridium*
- *Bacteroides*
- *Faecalibacterium*
- *Akkermansia*

Status normativo per il termine **prebiotico** definito da LINEE GUIDA SU PROBIOTICI E PREBIOTICI del 2018 (Ministero della Salute)

https://www.salute.gov.it/imgs/C_17_pubblicazioni_1016_allegato.pdf



Ministero della Salute

DIREZIONE GENERALE PER L'IGIENE E LA SICUREZZA DEGLI ALIMENTI E LA
NUTRIZIONE - UFFICIO 4

LINEE GUIDA SU PROBIOTICI E PREBIOTICI

Revisione marzo 2018

2. PREBIOTICI

Indicazioni per l'uso negli alimenti e negli integratori alimentari di prebiotici tradizionalmente utilizzati per l'equilibrio della flora batterica intestinale

2.1 Definizioni

Le presenti indicazioni fanno riferimento al documento FAO “FAO Technical Meeting on Prebiotics” (Roma, settembre 2007) dove il termine “prebiotico” è definito come segue:

“A prebiotic is a non-viable food component that confers a health benefit on the host associated with modulation of the microflora” (Un prebiotico è un costituente degli alimenti non vitale che conferisce un beneficio alla salute mediante una modulazione del microbiota).

Prebiotici

Prebiotici: sono degli ingredienti che vengono fermentati dal microbiota. I prodotti della fermentazione provocano cambiamenti specifici nella composizione e/o nell'attività del microbiota, conferendo benefici alla salute dell'ospite.

I prebiotici sono generalmente carboidrati non digeribili, oligosaccaridi o polisaccaridi corti, come inulina, oligofruttosio, galattofruttosio, galatto-oligosaccaridi e xiloligosaccaridi

Il dosaggio di prebiotici deve essere adeguato e non troppo elevato per evitare effetti negativi sull'ospite

The International Scientific Association
for Probiotics and Prebiotics (ISAPP)
consensus statement on the definition
and scope of prebiotics

*Glenn R. Gibson¹, Robert Hutkins², Mary Ellen Sanders³, Susan L. Prescott⁴,
Raylene A. Reimer⁵, Seppo J. Salminen⁶, Karen Scott⁷, Catherine Stanton⁸,
Kelly S. Swanson⁹, Patrice D. Cani¹⁰, Kristin Verbeke¹¹ and Gregor Reid¹²*



Definizione	<ul style="list-style-type: none"> • FAO, 2008: "Costituente degli alimenti non vitale che conferisce un beneficio alla salute mediante una modulazione del microbiota" • Gibson et al., 2010: "Ingrediente fermentato selettivamente che provoca cambiamenti specifici nella composizione e/o nell'attività del microbiota gastrointestinale, conferendo benefici alla salute dell'ospite" • Gibson et al., 2017: "Substrato utilizzato selettivamente dai microrganismi dell'ospite, conferendo un beneficio per la salute"
Requisiti	<ul style="list-style-type: none"> • Deve essere sicuro per l'uomo sulla base di un uso tradizionale • Deve essere presente nell'assunzione giornaliera in quantità plausibili per svolgere un effetto "prebiotico" secondo le evidenze scientifiche disponibili

PREBIOTICI

Diverse sostanze come i polifenoli, minerali o vitamine possono esercitare effetti benefici attraverso la modulazione del microbiota intestinale e possono essere tranquillamente qualificarsi come prebiotici.

Tre questi per es. si annoverano gli alimenti ricchi in **polifenoli** come i mirtilli rossi, **procianidine** di mele e i polifenoli dell'uva.

Il **resveratrolo** contenuto nel vino si è dimostrato utile nel modulare il microbiota intestinale aumento la presenza di *Bacteroides*, *Bifidobacterium*.

La **riboflavina** è considerata un nuovo probiotico.

Quando si trova nel suo stato ossidato, può accettare elettroni, mentre nello stato ridotto donare elettroni per ridurre l'ossigeno libero.

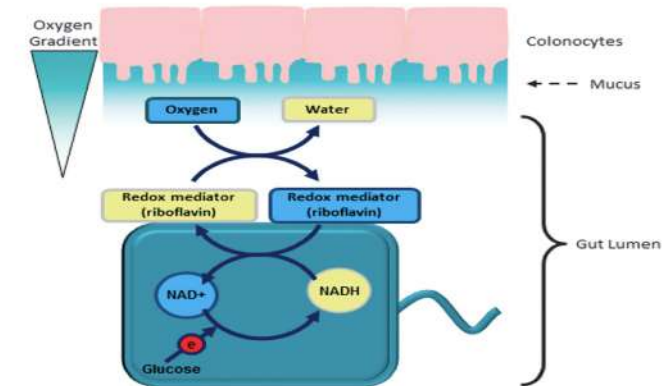


Figure 1. Schematic representation of the function of vitamins as redox mediators carrying reduction equivalents that are liberated during the glycolysis of carbohydrates via NADH to oxygen. Glucose is an example of a carbohydrate electron donor. The electrons reduce the mediators and finally oxidize electron acceptors from the epithelium, such as oxygen or nitrate. The flagellated box represents a bacterium, such as *F. prausnitzii*. In the presence of redox mediators, the anaerobic bacteria can reduce the oxygenated environment using their metabolism and thus reduce oxidative stress.^{69,70}

PREBIOTICI

La **chitina** è un polisaccaride modificato contenente azoto con una struttura analoga alla cellulosa indigeribile; è considerata una fibra insolubile con potenziali proprietà prebiotiche.

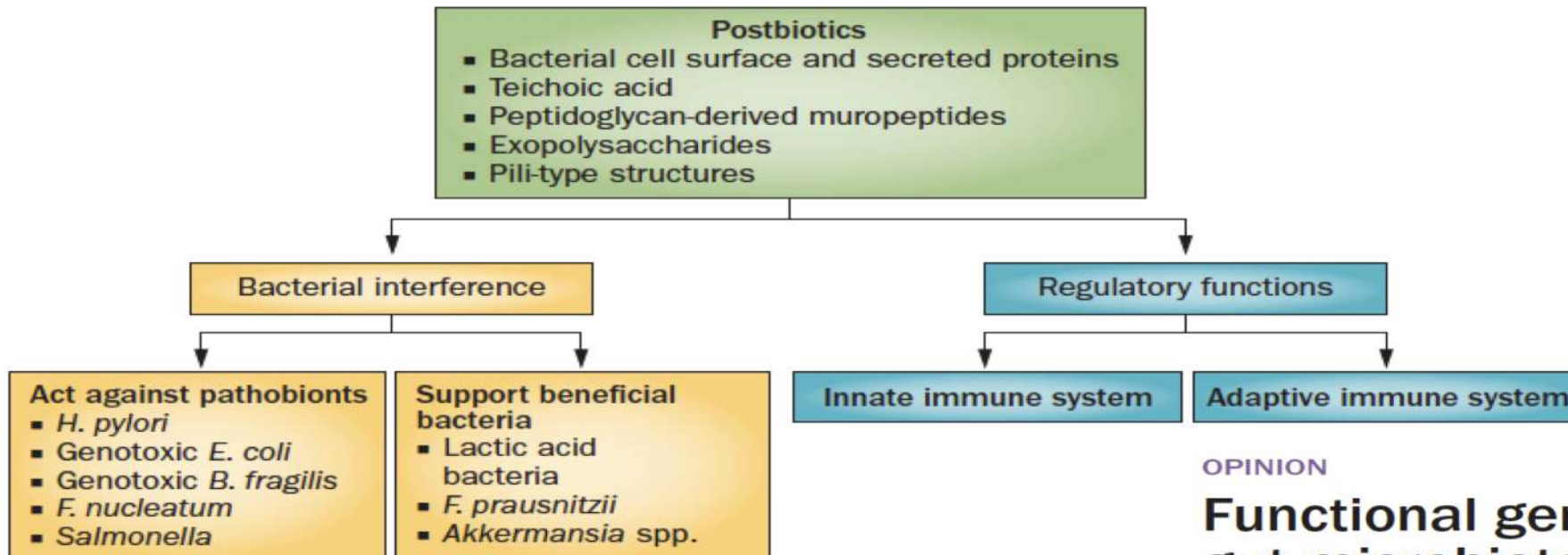
In generale, gli insetti sono una buona fonte di proteine animali biodisponibili, compresi tutti gli aminoacidi essenziali, nonché vitamine del gruppo B, minerali e acidi grassi essenziali.



Postbiotici

Sono i metaboliti microbici, parti strutturali delle cellule o cellule inattivate

Il ruolo dei postbiotici è quello di prevenire la colonizzazione da parte dei patogeni migliorando l'ambiente gastrointestinale in modo da favorire lo sviluppo di microrganismi benefici per la salute umana



OPINION

Functional genomic analyses of the gut microbiota for CRC screening

Sergey R. Konstantinov, Ernst J. Kuipers and Maikel P. Peppelenbosch

POSTBIOTICI

Cellule microbiche non vitali o inattivate che, se somministrate in quantità sufficienti, conferiscono benefici all'ospite"

I postbiotici stimolano il sistema immunitario ospite e quindi innescano, ad esempio, risposte antinfiammatorie.

Acidi grassi a catena corta (SCFA), frazioni di cellule microbiche, proteine funzionali, polisaccaridi extracellulari (**EPS**), lisati cellulari, acidi teicoici, muropeptidi derivati da peptidoglicani e strutture tipo i pili.



International Journal of
Molecular Sciences



Review

Postbiotics and Their Potential Applications in Early Life Nutrition and Beyond

Carrie A.M. Wegh ¹, Sharon Y. Geerlings ¹, Jan Knol ^{1,2}, Guus Roeselers ² and Clara Belzer ^{1,*}



kombucha



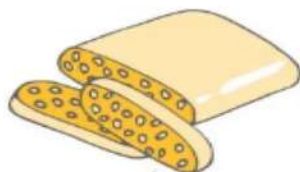
sauerkraut



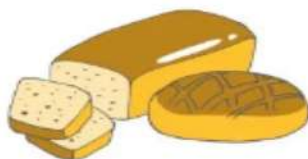
dairy products



miso soup



soy tempe



sourdough bread

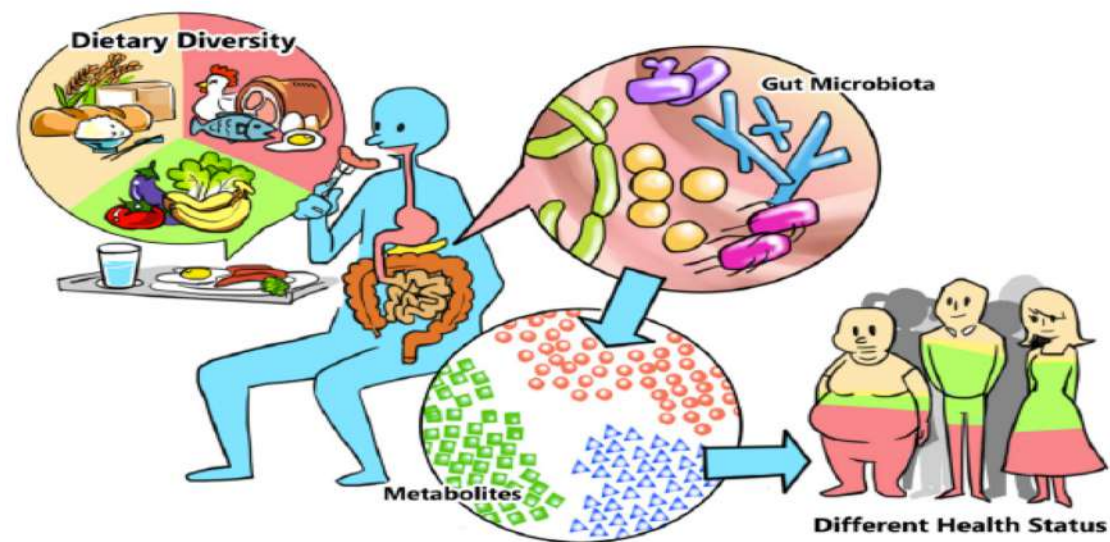


FIG 1 The gut microbiome-metabolomic-human health axis.