

Corso di Laurea Magistrale in Scienze delle Produzioni Animali Sostenibili LM-86

UD-1

Insegnamento in: ***SANITA' E SICUREZZA DEI PRODOTTI DI ORIGINE ANIMALE OTTENUTI DA
TECNOLOGIE INNOVATIVE E SOSTENIBILI***

SSD: VET/04; 6 CFU (60 ore)

Parte 2

A.A. 2025-2026

Docente del Corso:
Dr. Gianluigi Ferri
DVM; PhD in Food Inspection
gferri@unite.it

Matrici alimentari: sistemi **dinamici** e/o **microenvironments**

Carica microbica iniziale (**TMC**, **TPC**, ect.)

Valutazioni e ragionamenti di **micro-sistemi**

Parametri fisico-chimici di base:

- Activity water (aw);
- Potenziale redox;
- pH;
- Temperatura.

aw

Activity water

- microrganismi → bisogno di acqua per scambi metabolici;
- sottrazione di acqua → ritardo sviluppo negli alimenti:
 - acqua “libera” biologicamente disponibile;
 - acqua legata → associazione a macromolecole organiche (proteine quaternarie);
- aumento della concentrazione di sostanze in grado di trattenere l'acqua → diminuzione della tensione di vapore d'acqua sopra l'alimento;
- tensione di vapore direttamente proporzionale alla quantità di acqua effettivamente a disposizione dei microrganismi;
- misura “acqua disponibile” → concetto di *activity water*.

a_w
Activity water

Fisica & Applicazione microbiologica

$$a_w = p/p_0 \text{ attività dell'acqua}$$



p = pressione di vapore della soluzione
 p_0 = pressione di vapore del sovente puro

Legge di Roul sulle soluzioni ideali:

$$a_w = N_w/(N_w + N_s)$$



N_w = numero moli solvente
 N_s = numero moli soluto

In acqua distillata $\rightarrow a_w = N_w/(N_w + 0) \rightarrow a_w = 1$

In ambiente privo di acqua $\rightarrow a_w = 0/(0 + N_s) \rightarrow a_w = 0$

Considerazioni pratiche sull'**aw**

- La **modulazione** della **concentrazione** del **soluto**, ovvero sia un suo aumento, determina un abbassamento dell'acqua biodisponibile: $a_w < 1$;
- I principali soluti che vengono introdotti nelle diverse produzioni alimentari sono: lo zucchero e il cloruro di sodio;
- Il ragionamento che ne viene fuori è che: *sottraendo acqua biodisponibile per la proliferazione microbica determina un rallentamento del metabolismo batterico* → esso determina:
 1. Prolungamento della durata della lag fase;
 2. Maggiore dilazionamento temporale delle fasi di duplicazione microbica;
 3. Ridotta numerosità microbica nella log fase;
 4. Aumento dei batteri morti sui duplicati.
- La **completa assenza di acqua biodisponibile** determina un **arresto del metabolismo microbico**.

Classificazione dei microorganismi in funzione dell'**aw**

- microrganismi particolarmente sensibili = effetto battericida;
- microrganismi in grado di sopportare valori molto bassi di a_w :
 1. xerotolleranti (*xeros* = secco)
 2. osmotolleranti
 3. alotolleranti (*hal* = sale);
- microrganismi talmente adattati a bassi valori di a_w da necessitare di elevate concentrazioni saline o zuccherine:
 1. xerofili (muffe)
 2. osmofili (zuccheri nel substrato)
 3. alofili (NaCl nel substrato).

Fisiologia cellulare dell'**aw**

- **Meccanismo del bioaccumulo**: consiste nella capacità di accumulare all'interno della cellula **sostanze osmoticamente attive** (polialcoli, aminoacidi, ioni, etc.) in grado di legarsi all'acqua nella cellula proteggendo gli enzimi;
- **Maggiore assorbimento soluti** → strutture trans-parietali;
- **Maggiore sintesi intra-cellulare di aminoacidi.**

Esempi

- *Staphylococcus* spp. → accumulo glicina e colina;
- alcuni lieviti → glicerolo, arabitolo oppure ioni sodio e potassio

aw
Activity water

valore ottimale di $a_w = 0,98$

assenza sviluppo microbico ambienti $a_w < 0,61$

Solamente **lieviti e muffe** possono svilupparsi in alimenti con $a_w = 0,61-0,62$ mentre **nessun batterio** è in grado di riprodursi con $a_w < 0,75$

L'abbassamento dell'aw può determinare:

- pur consentendo lo **sviluppo microbico**;
- impedisce la produzione di **metaboliti tossici**.

Esempi pratici:

S. aureus → sviluppa con aw fino a 0,83 non produce enterotossina con aw < 0,92;

A. flavus → sviluppa con aw fino a 0,78 non produce aflatossina con aw < 0,86.

aw
Activity water

Determinanti...

- Fattore molto importante nel settore delle tecnologie alimentari;
- influenza il **metabolismo/sopravvivenza** dei microrganismi;
- opera una selezione microbica utilizzabile ai fini produttivi.

Teoria delle barriere multiple o ***hurdle technologies*** (applied to the food industries)

Sopravvivenza microrganismi in ambienti con valori di aw subottimali

1. acidità del mezzo;

2. temperatura (aumento della termoresistenza mano a mano che ci si trova in ambienti sempre più secchi).

Alimenti altamente deperibili $aw > 0.95$

Oltre questo valore vengono inclusi tutti i prodotti freschi;

Substrato ideale **Gram-negativi** (optimum aw 0.95 – 0,99):

- alteranti in **alimenti proteici** come per esempio nelle carni sia di mammiferi che nei prodotti della pesca freschi → *Pseudomonas* spp.
- Microorganismi patogeni: includono tutte le specie patogene dei Gram-negativi come per es. *Escherichia coli*.

Alimenti deperibili $aw < 0.95 > 0.90$

Substrato ideale per microorganismi Gram-positivi (che riescono a crescere bene anche con valori di aw superiori, se non prendono il sopravvento i Gram-negativi)

- **alteranti** (lattici, micrococchi, bacilli e clostridi)
- **patogeni** (stafilococchi, bacilli e clostridi)
- tutti i patogeni Gram-negativi pur sopravvivendo, **non** riescono a duplicare con valori di aw < 0.95
(**solo il *Vibrio parahaemolyticus*** aw < 0.92 → germe indicatore per alimenti ad umidità intermedia molto elevata soprattutto se vengono utilizzate materie prime di origine ittica o sale marino).

Negli Alimenti altamente deperibili e alimenti deperibili, pur verificandosi una selezione della flora alterante, l'aw da solo **non** rappresenta un fattore utile per la loro conservabilità

aw
Activity water

Alimenti ad umidità intermedia $aw < 0,90 > 0,65-0,60$

Se conservati in ambienti non eccessivamente umidi

- **Non** consentono lo sviluppo di batteri (eccetto **alofili**)

→ batteri alofili: Famiglia *Halobacteriaceae*, Genere *Halobacterium* e gen. *Halococcus* ($aw < 0,86 > 0,81$)

- importanti alteranti alimenti salati;
- principale fonte di contaminazione → sale marino;
- cromogeni, aerobi, gram positivi.

→ muffe. Alterazioni superficiali per esigenze di O₂

→ *Xeromyces bisporus* crescita a più bassi valori di **aw (0,61)**

Alimenti allo stato solido → **aw non uniforme**

- Variabilità porzioni esterne tipo di tessuto (aponeurosi connettivali, tessuto adiposo)
- Umidità relativa ambientale:

1. bassa umidità ambientale

- favorevole conservazione del prodotto
- se eccessivamente bassa → elevato calo peso.

2. elevata umidità ambientale

- condensazione dell'acqua sul prodotto
- innalzamento valore di aw

Domande ???

Definizione di POTENZIALE REDOX (E_h)

Misura della capacità di un substrato di perdere elettroni (tendenza a cedere elettroni in confronto ad un elettrodo di riferimento – elettrodo di platino – in atmosfera di idrogeno in condizioni standard)

Da tenere a mente:

- Perdere elettroni → il substrato si ossida (buon agente riducente)
- Acquistare elettroni → il substrato si riduce (buon agente ossidante)
- Passaggio di elettroni da un composto all'altro → differenza di potenziale (mV)

Substrati ossidati → potenziale **redox positivo**

Substrati ridotti → potenziale **redox negativo**

Potenziale redox espresso con il simbolo E_h

In **presenza di O₂** → potenziale redox sempre positivo (**E_h+**)

In **assenza di O₂** → potenziale redox sempre negativo (**E_h-**)

Negli alimenti

→ valori più elevati (**E_h+**) → strati superficiali a contatto con l'aria → E_h via via più basso fino a diventare negativo (**E_h-**) mano a mano che si procede verso la profondità

capacità di penetrazione dell'O₂ all'interno dell'alimento

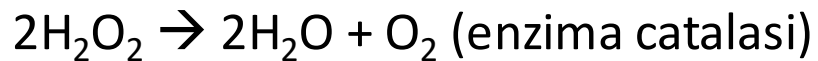
- tensione nell'ambiente che circonda l'alimento;
- struttura dell'alimento (maggiore/minore compattezza);
- concentrazione e tipo composti ridotti presenti.

Eh & Microorganismi

- Microrganismi che necessitano di valori di **Eh positivi** (substrati ossidati) → **aerobi**
e.g. *Pseudomonas fluorescens* Eh tra +100 e +500 mV
- Microrganismi che necessitano di valori di **Eh negativi** (substrati ridotti) → **anaerobi**
e.g. Clostridi Eh circa -300 mV
- Possibilità di sviluppare indifferentemente su substrati con valori di **Eh positivi** e **negativi** →
aerobi/anaerobi facoltativi.
e.g. *Staphylococcus aureus* da -200 a + 200 mV

Microrganismi aerobi

necessitano di O₂ come ultimo accettore di H⁺ che si producono nel processo respiratorio da cui traggono energia → porzioni superficiali alimenti



Microrganismi anaerobi

l'ultimo accettore di H⁺ è un composto diverso dall'O₂ che viene conseguentemente ridotto → porzioni profonde alimenti sprovvisti di tali enzimi

- Microrganismi Aerobi-anaerobi facoltativi;
- no respirazione aerobica (produzione energia per via fermentativa);
- capacità di sviluppare anche in presenza di O₂;
- privi di superossidodismutasi e catalasi;
- meccanismi alternativi in grado di metabolizzazione H₂O₂.

Osservazioni...

- Valori di E_h negli alimenti
- Vegetali (succhi di frutta, verdure) +300/+400 mV
- Carne da +250 dopo la macellazione scende a – 200 mV durante la conservazione
- Formaggio da –20 a –200 mV
- Conserve in scatola da –20 a –150 mV)

Applicazioni nelle industrie alimentari...

Interventi tecnologici in grado di modulare ovvero sia di abbassare il potenziale redox:

- aggiunta sostanze riducenti (acido ascorbico, zuccheri, ...);
- confezionamento sottovuoto o in atmosfere gassose inerti;
- attività microorganismi aerobi.

Domande ???

pH

Definizione: *è il logaritmo negativo della concentrazione di idrogenioni in una soluzione*

- Il valore di pH indica l'acidità di un substrato;
- I batteri riescono a duplicare in un microambiente con pH compreso tra in 4.5 – 9.0, con un range ottimale (*optimum*) collocato nella **neutralità: 6.5 – 7.5**;
- in funzione del pH ottimale i microrganismi si distinguono in
 1. **Acidofili**
 2. **Neutrofili**
 3. **Basofili**

Vibrio spp. e *Clostridium* spp. sono più sensibili alle variazioni di pH. *E. coli*, *Salmonella* spp., *S. aureus* sono i più resistenti.

La maggior parte dei patogeni non sviluppa a pH < 4.6.

pH

Meccanismo di azione:

Acidificazione del substrato

Riduzione del pH nel citoplasma cellula batterica

- **Azione diretta**: elevata concentrazione protoni ambiente esterno → diminuzione impermeabilità di membrana.
- **Azione indiretta**: penetrazione intracellulare molecole non dissociate di acido → dissociazione in ambiente neutro
- **Azione chelante** su ioni minerali indispensabili alla formazione di enzimi (Mg a pH acido; Zn, Ca e Fe a pH basico)
- **Azione** sulla **permeabilità** selettiva di membrana.

pH

Acidità prodotto alimentare → notevole azione sulla ecologia microbica → intensità e tipo fenomeni alterativi

e.g. *Shewanella* spp. nei prodotti della pesca (acido sensibile).

Domande ???

T (°C)

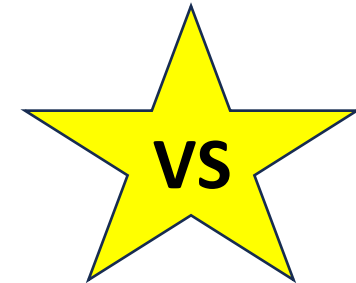
- Variabile ambientale ampiamente utilizzata (effetto battericida) per il controllo dei microrganismi nelle matrici alimentari;

Azione batteriostatica: ritardare la crescita
inibire la crescita

Azione battericida: eliminazione parziale
eliminazione totale

Azione freddo

- Riduzione dell'energia cinetica delle molecole;
- Rallentamento delle principali reazioni biochimiche metaboliche;
- Raggiungimento di *condizioni ambientali non favorevoli* per la vita microbica;
- Ritardo dell'insorgenza di fenomeni alterativi propri della materia vivente;
- Ciascuna delle reazione degradativa risponde in maniera diversa alle variazioni di temperatura.



T (°C)

Alcune precisazioni in ambito microbiologico applicato alle matrici alimentari

- **temperature minima e massima** → al disotto e al disopra dei quali il microrganismo non è più in grado di duplicare.
- **temperatura “*ottimale*”** → va riferita ad un parametro particolare per convenzione: massimo numero di atti replicativi.

T (°C)

Batteri psicrofili

- Temperatura ottimale → T = 15°C
- Temperatura massima → T = 25°C
- Possibilità di duplicare attivamente anche a T = 0°C
- **Gram negativi**: *Pseudoalteromonas* spp., *Moraxella* spp., *Psychrobacter* spp., *Polaromonas* spp., *Psychroflexus* spp., *Polaribacter* spp., *Moritella* spp., ***Vibrio* spp.** e ***Pseudomonas* spp.**
- **Gram positivi**: *Arthrobacter* spp., *Bacillus* spp., ***Micrococcus* spp.**
- Dal punto di vista pratico: al massimo responsabili di qualche processo alterativo.

T (°C)

Batteri psicrotrofi

- Temperatura ottimale → **T = 25 - 30°C**
- Temperatura massima → **T = 37°C**
- Temperatura minima → **T = 2 - 3°C**
- Generi tipicamente responsabili di fenomeni alterativi: *Pseudomonas* spp., *Alteromonas* spp., *Alcaligenes* spp., *Flavobacterium* spp., *Serratia* spp., *Bacillus* spp., *Clostridium* spp., *Lactobacillus* spp., *Leuconostoc* spp., *Carnobacterium* spp., *Brochothrix* spp.
- Tra i **mesofili**, isolabili anche ceppi con **caratteristiche più o meno** spiccate di **psicrotrofia**: *Listeria monocytogenes*, *Yersinia enterocolitica*, *Clostridium botulinum*, *Bacillus cereus*, *Aeromonas hydrophila*, *Salmonella* ssp.

T (°C)

... rigida e precisa schematizzazione microrganismi in grado di duplicare alle basse temperature comunque difficile ...

... lunghi dibattiti sulla migliore terminologia da utilizzare

Psicrofili temperatura ottimale < 15°C
temperatura massima 20°C
temperatura minima 0°C o minore

Psicrotrofi temperatura ottimale > 15°C
temperatura massima > 25°C

T (°C)

Psicrofili → specificatamente adattati a crescere a basse temperature;
→ habitat permanentemente freddi.

Psicrotrofi → semplicemente freddo-tolleranti;
→ habitat con regimi termici fluttuanti.

- *Entrambi notevolmente diffusi soprattutto Gram negativi, aerobi, asporigeni, bastoncellari*

T (°C)

Batteri mesofili

- Temperatura ottimale → **T = 35 - 37°C**
- Temperatura massima → **T = 41°C**
- Temperatura minima → **T = 7°C**
- Molti agenti di malattia alimentare e molti alteranti (coliformi).
- Tra i mesofili, isolabili anche ceppi con caratteristiche più o meno spiccate di psicrotrofia: *Listeria monocytogenes*, *Yersinia enterocolitica*, *Clostridium botulinum*, *Bacillus cereus*, *Aeromonas hydrophila*, *Salmonella* ssp.

WARM !!!

T (°C)

Batteri termotrofi

- Mesofili particolarmente bene adattati a **T fino ai 45°C** (limite minimo: T = 7 - 10°C);
- coliformi fecali (*Escherichia coli* e ceppi patogeni di *Campylobacter* spp.), alcune specie di *Bacillus* spp. e *Clostridium* spp. (*C. perfringens*).

Batteri termofili

- Temperatura ottimale → **T > 50 - 55°C**
- Alcuni nella categoria degli “estremofili” crescono bene solo se in presenza di → **T = 85 – 95°C**
- Scarsa rilevanza in igiene alimentare

T (°C)

...necessità di rendere disponibili nel tempo e nello spazio prodotti alimentari con caratteristiche organolettiche accettabili per il consumatore ...

impedire (o ritardare il più possibile) la comparsa
dei fenomeni alterativi

tecnica conserviera

Ecco alcuni esempi: disidratazione, salagione, trattamenti termici, uso del freddo, fermentazione ...

Piccola preview

Definizione di TRATTAMENTO

qualsiasi azione che provoca una modificazione sostanziale del prodotto iniziale, compresi trattamento termico, affumicatura, salagione, stagionatura, essiccazione, marinatura, estrazione, estrusione o una combinazione di tali procedimenti.

Regolamento (UE) N. 852/2004

Piccola preview

Definizione di PRODOTTI TRASFORMATI

*Prodotti alimentari ottenuti dalla trasformazione di prodotti non trasformati.
Tali prodotti possono contenere ingredienti necessari alla loro lavorazione o
per conferire loro caratteristiche specifiche.*

Regolamento (CE) n. 852/2004