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: MVET-02/B; 6 CFU (60 ore)

Parte 2

A.A. 2026-2027

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-chimci 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.*

aw

Activity water

Fisica & Applicazione microbiologica

$a_w = p/p_0$ **attività dell'acqua**

p= pressione di vapore della soluzione

p_0 = pressione di vapore del sovente puro

Legge di Roul sulle soluzioni ideali:

$aw = Nw/(Nw+ Ns)$

Nw = numero moli solvente

Ns = numero moli soluto

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

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

Considerazioni pratiche sull'**aw**

- La **modulazione** della **concentrazione** del **soluto**, ovvero sia un suo aumento, determina un abbassamento dell'acqua biodisponibile: aw< 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**.

aw

Activity water

Classificazione dei microorganismi in funzione dell'aw

- microrganismi particolarmente sensibili = effetto battericida;

- microrganismi in grado di sopportare valori molto bassi di a_w :

1. xerotolloranti (*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).

aw

Activity water

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 $a_w = 0,61\text{-}0,62$ mentre **nessun batterio** è in grado di riprodursi con $a_w < 0,75$

aw

Activity water

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 industires)

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).

aw
Activity water

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*.

aw
Activity water

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).

aw

Activity water

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)**

aw

Activity water

Alimenti stabili aw < 0,65

Molti microorganismi vivi e vitali in grado di provocare fenomeni alterativi **non** appena il prodotto riacquista piccole quantità di acqua (“*rosso dei baccalari*”);

- Prodotti soggetti a reidratazione;
- Miscelazione ad altri prodotti ad elevata aw;
- Presenza patogeni vivi e vitali;
- Presenza tossine preformate prima dell’essiccamento.

aw
Activity water

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

aw
Activity water

Applicazione pratica

- Caratteristiche sanitarie dell'alimento

23 ceppi di *S. aureus* concentrazioni NaCl 5 e 8% temperature incubazione 30 e 10°C;

30°C → sviluppano tutti in presenza di entrambe le concentrazioni di NaCl saggiate;

10°C → sviluppo solo 1 ceppo a concentrazione di NaCl del 5%;

Prodotti sottoposti a salagione → distribuzione del sale e/o umidità relativa dell''ambiente → punto critico;

Patogeno più frequentemente coinvolto in episodi tossinfettivi per consumo di prodotti salati → *S. aureus*.

aw
Activity water

Applicazione pratica

- attualmente utilizzate dalla industria conserviera concentrazioni saline tali da portare il valore di aw del prodotto a 0,95;
- contemporanea conservazione in ambiente refrigerato.

Esso implica:

1. **blocco** attività **psicrofili** alteranti (aw minimo = 0,96);
2. **sviluppo** microorganismi più **tolleranti** (micrococchi e lattobacilli);
3. **fenomeni alterativi** carni salate non di tipo putrefattivo ma comparsa odore e sapore acido o caseoso.

Domande ???

E_h
Potenziale redox

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 Eh

E_h

Potenziale redox

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

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

Negli alimenti
→ valori più elevati **(Eh+)** → strati superficiali a contatto con l'aria → Eh via via più basso fino a diventare negativo **(Eh-)** 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.

E_h

Potenziale redox

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

E_h

Potenziale redox

Microrganismi aerobi

necessitano di O_2 come ultimo accettore di H^+ che si producono nel processo respiratorio da cui traggono energia → porzioni superficiali alimenti

$2O_2 + 2H^+ \rightarrow H_2O_2 + O_2$ (enzima superossidodismutasi)

$2H_2O_2 \rightarrow 2H_2O + O_2$ (enzima catalasi)

Microrganismi anaerobi

l'ultimo accettore di H^+ è un composto diverso dall'O_2 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 O_2;
- privi di superossidodismutasi e catalasi;
- meccanismi alternativi in grado di metabolizzazione H_2O_2.

E_h

Potenziale redox

Osservazioni…

- Valori di Eh 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)

E_h
Potenziale redox

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* ssp. 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 ???

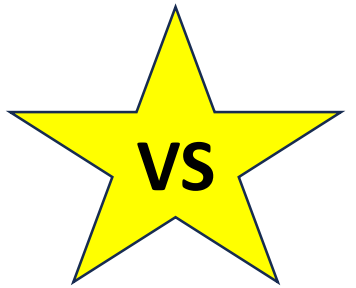
T (°C)

- 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 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)

- Temperature “cardinali” per lo sviluppo microbico
  - Variano al variare del microrganismo
  - Tipiche di ciascun genere o specie (o clone!)

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**

WARM !!!

- 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.

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 accettabiliper 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