

Indice

1. FATTORI CHE INFLUENZANO LO SVILUPPO MICROBICO	3
2. FATTORI INTRINSECI ED ESTRINSECI.....	5
3. INFLUENZA DELL'ATTIVITÀ DELL'ACQUA (AW).....	6
BIBLIOGRAFIA.....	12

1. Fattori che influenzano lo sviluppo microbico

Gli alimenti non sono sterili e la composizione microbica dipende dai tipi di microrganismi che vengono a contatto con l'alimento, dalla loro capacità di crescere, sopravvivere e interagire con l'alimento. Quindi, quando le condizioni ecologiche dell'alimento sono favorevoli, i microrganismi si moltiplicano, aumentando come numero. L'equilibrio tra le varie tipologie di gruppi microbici è influenzato dalle proprietà dell'alimento, dalle caratteristiche dei microrganismi presenti, dall'effetto dei processi di trasformazione e di conservazione.

In molti casi la microflora non ha alcun effetto evidente nell'alimento, mentre in alcune circostanze i microrganismi manifestano la loro presenza, causando malattie alimentari, alterazione, trasformazioni positive delle caratteristiche dell'alimento.

E' l'abilità dei singoli gruppi microbici di sopravvivere e moltiplicarsi in un determinato ecosistema alimentare che determina la **microflora** dell'alimento (consorzio di microrganismi presenti in un determinato ecosistema). Va sottolineato che i microrganismi, dopo aver contaminato l'alimento, sono capaci di sopravvivere e moltiplicarsi solo se trovano le **condizioni favorevoli**. I microrganismi **patogeni/tossigeni/alteranti** diventano dannosi se raggiungono un numero sufficientemente elevato di **carica infettante**, cioè di numero vitale di cellule presenti nell'alimento, che in generale, come precedentemente trattato, non deve superare il valore di 10⁴ cfu/g o ml di alimento, limite che determina la contaminazione e il potenziale rischio per la salubrità del prodotto. Nel momento in cui un alimento contiene una carica microbica infettante, il **livello di contaminazione** è influenzato dalla capacità dei microrganismi presenti di proliferare ed incrementare il numero di cellule vitali e attive. Altro fattore è la **sopravvivenza** dei microrganismi contaminanti, il cui numero di cellule vitali non aumenta in determinate condizioni sfavorevoli, che però possono variare determinando o l'inibizione/morte cellulare oppure favorire lo sviluppo di quelle popolazioni microbiche presenti. Altro fattore che influenza il livello di contaminazione è **persistente**.

- l'attività microbica che si esplica principalmente attraverso processi biochimici, consumo di nutrienti e produzione di metaboliti da parte dei microrganismi presenti.

2. Fattori intrinseci ed estrinseci

Parametri ambientali chimico-fisici influenzano la presenza dei microrganismi negli alimenti:

Abbiamo accertato che i microrganismi sono ampiamente diffusi sugli alimenti, ma che il loro sviluppo e il loro metabolismo sono influenzati da specifici fattori e parametri. I principali fattori, che influenzano la crescita, la sopravvivenza e l'attività (consumo di nutrienti e produzione di dei microrganismi di interesse alimentare, sono compresi in due gruppi. Sono definiti come "intrinseci i fattori o parametri che sono propri dell'alimento in se stesso, mentre sono chiamati "estrinseci" i parametri correlati alle caratteristiche dell'ambiente circostante, che influenzano sia l'alimento stesso che i microrganismi in esso contenuti (fenomeni di interazione tra le diverse popolazioni microbiche). Parametri intrinseci ed estrinseci possono essere manipolati al fine di limitare la crescita e l'attività microbica per garantire la conservazione degli alimenti.

I parametri intrinseci (ambiente interno all'alimento) sono l'espressione delle caratteristiche fisiche, chimiche e biologiche dell'alimento, comprendono il contenuto di acqua (aw), il pH, il potenziale ossidriduttivo, la presenza di nutrienti. I principali parametri estrinseci sono indipendenti dal substrato e sono l'insieme delle caratteristiche dell'ambiente di conservazione, comprendono la temperatura, l'atmosfera gassosa che circonda l'alimento e l'umidità relativa.

espressione delle caratteristiche fisiche, chimiche e biologiche dell'alimento

indipendenti del substrato,
sono l'insieme delle caratteristiche
dell'ambiente di conservazione

3. Influenza dell'attività dell'acqua (aw)

Per quanto riguarda i fattori intrinseci, l'acqua è un parametro indispensabile per la vita dei microrganismi, la sua diminuzione provoca il rallentamento della loro crescita fino a provocarne la morte. Molti metodi di conservazione degli alimenti si basano su questo principio, cioè sulla riduzione dell'acqua libera nell'alimento, proprio per ridurre al minimo la carica microbica contaminante.

I microrganismi necessitano di acqua per il loro metabolismo e ogni substrato per consentire la crescita microbica deve presentare una fase acquosa, che funge da solvente per le sostanze nutritive.

L'acqua libera rappresenta l'aliquota di acqua del substrato che i microrganismi possono utilizzare per il loro metabolismo. Generalmente il fabbisogno di acqua dei microrganismi viene espressa in termini di attività dell'acqua (aw = activity water) dell'ambiente. L'aw è la frazione di acqua non legata chimicamente (acqua libera) e quindi disponibile per lo sviluppo microbico. Il termine aw è usato per descrivere le molecole di acqua che sono disponibili per il microrganismo in un ecosistema alimentare. Definisce il rapporto tra la pressione di vapore dell'acqua nell'alimento e la pressione di vapore dell'acqua pura: $aw = p/p_0$, dove p è la pressione di vapore dell'alimento e p_0 è la pressione di vapore dell'acqua pura. La vita dei microrganismi dipende assolutamente dall'acqua allo stato liquido. Tutti gli alimenti di origine animale hanno un contenuto in acqua sufficiente per lo sviluppo di tutti i microrganismi. Il contenuto di acqua tuttavia, non dà alcuna indicazione sulla disponibilità della stessa (cioè della cosiddetta attività dell'acqua).

Dal punto di vista microbiologico, piuttosto che la concentrazione dell'acqua, è importante il suo stato fisico. Infatti solo l'acqua non legata ad altre molecole, cioè l'acqua libera, è disponibile per il metabolismo microbico.

L'attività dell'acqua può essere calcolata mediante la legge di Raoult:

$$\text{Legge di Raoult}$$
$$a_w = \frac{n_2}{n_1 + n_2}$$

Dove n_1 = numero di molecole di soluto e n_2 = numero di molecole di solvente

Questo rapporto indica ugualmente il numero delle molecole di acqua presenti nel prodotto diviso per la somma delle molecole d'acqua e delle molecole disciolte (soluto).

L'acqua può essere non disponibile per i microrganismi quando è cristallizzata sotto forma di ghiaccio, è presente come acqua di idratazione, è assorbita sulle superfici o contiene soluti disciolti come sali o zuccheri. L'aggiunta di soluti: zucchero, sale determina sottrazione d'acqua per evaporazione, concentrazione, essicamento, affumicamento, tutti metodi che determinano una forte diminuzione di acqua libera disponibile per i microrganismi, inibendo la loro crescita e attività. L'aw può assumere solo valori compresi tra 1 e 0; l'aw di acqua pura è 1,00, ad esempio l'aw di una soluzione al 22% di NaCl è 0,86 e di una soluzione satura di sale è 0,75.

In funzione della presenza di soluti, i microrganismi si suddividono in:

Alofil: microrganismi che richiedono alte concentrazioni di sale per lo sviluppo (Crescita in presenza del 20% di NaCl pari ad un aw di 0,84)

Alotolleranti: microrganismi che non richiedono sale per la crescita ma possono svilupparsi anche in presenza del 10-15 % NaCl.

Osmofili/Osmotolleranti: microrganismi che possono crescere in soluzione ad alta osmolarità, capaci di crescere in presenza di alte concentrazioni di composti organici non ionizzati (zuccheri) (In particolare lieviti: es. 74g di zucchero m/100c → sviluppa nelle confetture)

Xerofili / xerotolleranti: microrganismi capaci di crescere in alimenti essiccati. (Muffe e Lieviti)

Un parametro legato all'attività dell'acqua è la pressione osmotica, che può essere definita come la forza per unità di superficie necessaria a interrompere il passaggio di molecole di acqua

da una zona ad alta aw a una con bassa aw. Un parametro utile a capire i movimenti di acqua dall'ambiente al citoplasma e viceversa è l'attività dell'acqua (aw). Il citoplasma è una soluzione acquosa e deve avere una aw inferiore a quella dell'acqua pura: il risultato è un passaggio di molecole di acqua nel citoplasma. Se il microrganismo non tollera questo passaggio esso aumenta di volume fino a scoppiare. Batteri, funghi e alghe hanno una parete rigida in grado di sopportare la pressione osmotica del citoplasma: fino a 30 atm nei Gram positivi, non superiore a 5 atm nei Gram negativi. Se nell'ambiente circostante il microrganismo l'aw diminuisce o la pressione osmotica aumenta, è necessario che nel citoplasma l'aw sia comunque inferiore e la pressione osmotica superiore. A tale scopo i microrganismi producono soluti che non interferiscono con le funzioni del citoplasma. Al diminuire dell'aw il numero di microrganismi capaci di moltiplicare si riduce. Per ogni specie microbica si possono identificare i valori di aw minimi per lo sviluppo. I microrganismi hanno la necessità di mantenere una pressione osmotica all'interno della cellula superiore a quella del mezzo che li circonda. Questa differenza esercita una pressione a livello di parete cellulare, dall'interno verso l'esterno della cellula, che è chiamata turgore cellulare. Si ipotizza che il turgore cellulare fornisca la forza meccanica necessaria per l'allungamento cellulare. Inoltre, poiché tutte le reazioni biologiche necessitano di ambiente acquoso, ci si aspetta che una riduzione di aw abbia un immediato effetto sul metabolismo e sullo stato fisiologico generale della cellula.

Ogni microrganismo ha un valore minimo di aw al di sotto del quale non sviluppa e un valore ottimale dove è massima la velocità di moltiplicazione. La diminuzione di aw ha un effetto principalmente batteriostatico. I microrganismi hanno esigenze diverse riguardo l'aw. In generale le cellule batteriche sono le più sensibili e la maggior parte dei batteri necessita valori di aw superiori a 0,88-0,90 per la crescita. I lieviti hanno un limite di 0,88, mentre le muffe possono crescere anche a valori di 0,80. Tra questi microrganismi ce ne sono alcuni che sono particolarmente resistenti alle basse aw. Questi sono i batteri alofili con un limite di aw di 0,75, le muffe xerofile 0,75 e lieviti osmofili, che possono crescere a valori di aw pari a 0,61.

Valori di aw minimi per la crescita di diversi microrganismi

Gruppi microbici	a_w	Specifici microrganismi
	1,00	
	0,97	<i>Clostridium botulinum tipo E;</i> <i>Pseudomonas spp.</i>
	0,96	<i>Escherichia coli; Acinetobacter</i>
	0,95	<i>Bacillus subtilis; Enterobacter aerogenes</i>
	0,94	<i>Clostridium botulinum tipo A e B;</i> <i>Candida utilis</i>
	0,93	<i>Rhizopus stolonifer; Botrytis cinerea</i>
Maggior parte dei batteri alterativi	0,90	<i>Geotrichum candidum</i> (<i>Saccharomyces cerevisiae</i>)
Maggior parte dei lieviti	0,88	
	0,86	<i>Staphylococcus aureus</i>
	0,84	<i>Alternaria citri</i>
	0,81	<i>Penicillium patulum</i>
Maggior parte delle muffe	0,80	
Batteri alofili	0,75	
	0,70	<i>Aspergillus glaucus</i>
	0,64	<i>Aspergillus echinulatus</i>
Muffe xerofile	(0,75)	<i>Xeromyces bisporus</i>
Lieviti osmofili	0,61	
Alimenti con aw al di sotto di 0,61 non consentono la crescita di nessun microrganismo		

I batteri necessitano di valori di aw più elevati
rispetto a muffe e lieviti

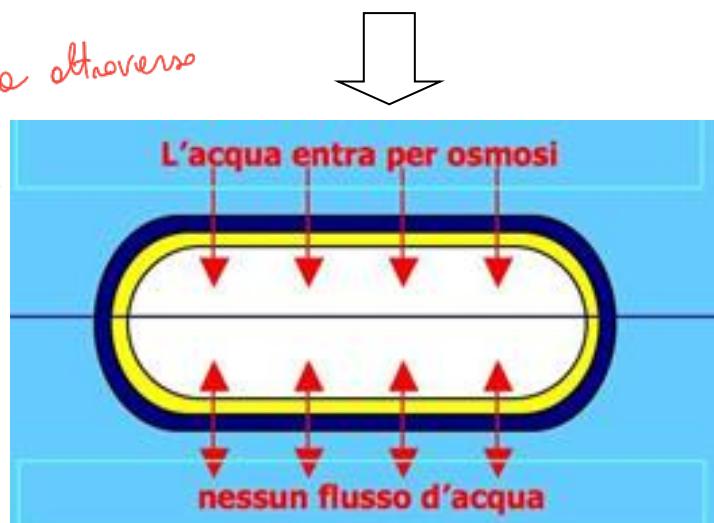
Valori di aw di alcuni alimenti

ALIMENTO	a_w	ALIMENTO	a_w
Succo di pomodoro	0,975	Verdure fresche	0,97
Pomodori interi in scatola	0,993	Frutta fresca	0,97
Macedonia in scatola	0,988	Succhi di frutta	0,97
Marmellate e gelatine	0,82-0,94	Uova	0,97
Miele	0,75	Formaggio fresco	0,97
Latte condensato (zuccherato)	0,833	Pane	0,96
Crackers	0,10	Carne di manzo	0,94
Zucchero	0,10	Salame fresco	0,99
Farina	0,70	Cavolo	0,64-0,75
Latte magro in polvere	0,70	Carote	0,64-0,75
Verdure disidratate	0,70	Patate	0,64-0,75
Frutta secca	0,70	Fragole	0,65 - 0,75

Quando l'aw di un alimento viene abbassata mediante l'aggiunta di sale o zucchero, le cellule microbiche sono soggette a fenomeni osmotici che ne causano una morte più rapida. La cellula va incontro al processo di PLASMOLISI, che le causano danni spesso irreversibili e la morte può sopravvenire per danni alla membrana e ai suoi enzimi o per danni agli enzimi citoplasmatici.

CELLULA IN AMBIENTE IPOTONICO

*Porosità dell'acqua attraverso
la membrana
cellulare dipende
da funzione dell'
ambiente.*



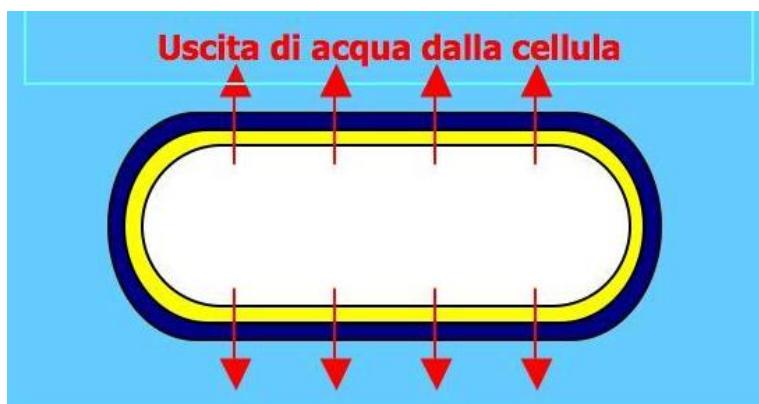
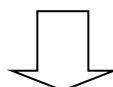
CELLULA IN AMBIENTE ISOTONICO

Se l'ambiente è isotono rispetto alla cellula microbica ci sarà la stessa concentrazione di soluto da entrambe le parti. La cellula, pertanto, si trova in equilibrio idrico e in grado di moltiplicarsi e svolgere le proprie attività.

Se l'ambiente è ipotonico rispetto alla cellula microbica l'acqua si muoverà dall'esterno verso l'interno, causando il rigonfiamento della cellula, che può scoppiare (lisi cellulare).

osmosi cellulare

CELLULA IN AMBIENTE IPERTONICO



Patrizia Romano - Fattori che influenzano la crescita microbica: aw

Se l'ambiente è ipertonico rispetto alla cellula microbica l'acqua si muoverà dall'interno della cellula verso l'esterno.

verso l'esterno della cellula, che raggrinzisce e può morire per disidratazione

La cellula può mettere in atto meccanismi di adattamento alle variazioni di aw e la strategia generale è quella dell'accumulare intracellulare di soluti. I microrganismi, quindi, possono adattarsi a variazioni di aw nell'intervallo dei valori che ne consentono lo sviluppo, mediante accumulo di soluti fisiologicamente compatibili (non tossici) che ristabiliscono le condizioni osmotiche ottimali.



I soluti sono molecole che possono essere immagazzinate ad elevate concentrazioni nella cellula senza interferire con il metabolismo. I microrganismi possono accumulare un elevato numero di soluti attraverso specifici sistemi di trasporto, la maggior parte dei quali sono presenti in quantità significative negli alimenti ed in questo modo permettere una crescita microbica in condizioni di aw ridotta. Queste molecole possono essere anche sintetizzate in presenza di precursori adeguati. Per esempio, i batteri possono accumulare: K⁺ e aminoacidi, i lieviti e le muffe accumulano: K⁺ e, a seconda della specie, trealosio, saccarosio, glucosio, glicerolo.

Bibliografia

- G.A., Farris, M. Gobbetti, E. Neviani, Microbiologia dei prodotti alimentari, Casa Editrice Ambrosiana, Milano, 2012
- L.S. Cocolin, G. Comi, La Microbiologia Applicata alle Industrie Alimentari, Aracne Editrice, Roma, 2007