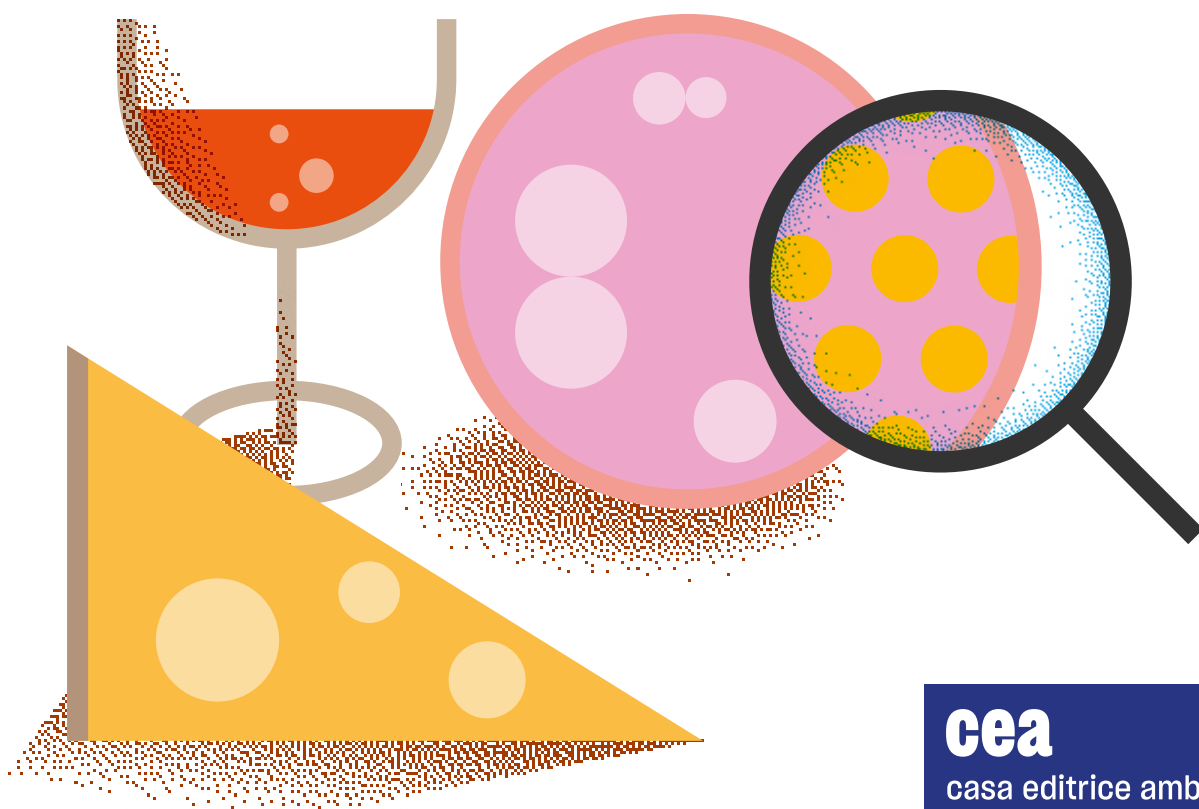


a cura di
Luca Cocolin
Marco Gobbetti
Erasmus Neviani

Microbiologia alimentare applicata



cea

casa editrice ambrosiana

a cura di
Luca Cocolin
Marco Gobbetti
Erasmus Neviani

Microbiologia alimentare applicata

Se vuoi accedere alle risorse online riservate

1. Vai su **my.zanichelli.it**
2. Clicca su *Registrati*.
3. Scegli *Studente*.
4. Segui i passaggi richiesti per la registrazione.
5. Riceverai un'email: clicca sul link per completare la registrazione.
6. Cerca il tuo codice di attivazione stampato in verticale sul bollino argentato in questa pagina.
7. Inseriscilo nella tua area personale su **my.zanichelli.it**

Se sei già registrato, per accedere ai contenuti riservati ti serve solo il codice di attivazione.

Dritti riservati

I diritti di pubblicazione, riproduzione, comunicazione, distribuzione, trascrizione, traduzione, noleggio, prestito, esecuzione, elaborazione in qualsiasi forma o opera, di memorizzazione anche digitale e di adattamento totale o parziale su supporti di qualsiasi tipo e con qualsiasi mezzo (comprese le copie digitali e fotostatiche), sono riservati per tutti i paesi. L'acquisto della presente copia dell'opera non implica il trasferimento dei suddetti diritti né li esaurisce.

Fotocopie e permessi di riproduzione

Le fotocopie per uso personale (cioè privato e individuale, con esclusione quindi di strumenti di uso collettivo) possono essere effettuate, nei limiti del 15% di ciascun volume, dietro pagamento alla S.I.A.E. del compenso previsto dall'art. 68, commi 4 e 5, della legge 22 aprile 1941 n. 633. Tali fotocopie possono essere effettuate negli esercizi commerciali convenzionati S.I.A.E. o con altre modalità indicate da S.I.A.E.

Per le riproduzioni ad uso non personale (ad esempio: professionale, economico, commerciale, strumenti di studio collettivi, come dispense e simili) l'editore potrà concedere a pagamento l'autorizzazione a riprodurre un numero di pagine non superiore al 15% delle pagine del presente volume.

Le richieste vanno inoltrate a:

Centro Licenze e Autorizzazioni per le Riproduzioni Editoriali (CLEARedi),

Corso di Porta Romana 108, 20122 Milano

e-mail: autorizzazioni@clearedi.org e sito web: www.clearedi.org

L'autorizzazione non è concessa per un limitato numero di opere di carattere didattico riprodotte nell'elenco che si trova all'indirizzo

www.zanichelli.it/chi-siamo/fotocopie-e-permessi

L'editore, per quanto di propria spettanza, considera rare le opere fuori del proprio catalogo editoriale. La loro fotocopia per i soli esemplari esistenti nelle biblioteche è consentita, anche oltre il limite del 15%, non essendo concorrenziale all'opera. Non possono considerarsi rare le opere di cui esiste, nel catalogo dell'editore, una successiva edizione, né le opere presenti in cataloghi di altri editori o le opere antologiche.

Nei contratti di cessione è esclusa, per biblioteche, istituti di istruzione, musei e archivi, la facoltà di cui all'art. 71-ter legge diritto d'autore.

Per permessi di riproduzione, diversi dalle fotocopie, rivolgersi a segreteria_cea@ceaedizioni.it

Licenze per riassunto, citazione e riproduzione parziale a uso didattico con mezzi digitali

La citazione, la riproduzione e il riassunto, se fatti con mezzi digitali, sono consentiti (art. 70 bis legge sul diritto d'autore), limitatamente a brani o parti di opera, a) esclusivamente per finalità illustrative a uso didattico, nei limiti di quanto giustificato dallo scopo non commerciale perseguito.

(La finalità illustrativa si consegue con esempi, chiarimenti, commenti, spiegazioni, domande, nel corso di una lezione); b) sotto la responsabilità di un istituto di istruzione, nei suoi locali o in altro luogo o in un ambiente elettronico sicuro, accessibili solo al personale docente di tale istituto e agli alunni o studenti iscritti al corso di studi in cui le parti di opere sono utilizzate; c) a condizione che, per i materiali educativi, non siano disponibili sul mercato licenze volontarie che autorizzano tali usi.

Zanichelli offre al mercato due tipi di licenze di durata limitata all'anno accademico in cui le licenze sono concesse:

A) licenze gratuite per la riproduzione, citazione o riassunto di una parte di opera non superiore al 5%. Non è consentito superare tale limite del 5% attraverso una pluralità di licenze gratuite,

B) licenze a pagamento per la riproduzione, citazione, riassunto parziale ma superiore al 5% e comunque inferiore al 40% dell'opera.

Per usufruire di tali licenze occorre seguire le istruzioni su www.zanichelli.it/licenzeeducative

L'autorizzazione è strettamente riservata all'istituto educativo licenziatario e non è trasferibile in alcun modo e a qualsiasi titolo.

Garanzie relative alle risorse digitali

Le risorse digitali di questo volume sono riservate a chi acquista un volume nuovo: vedi anche al sito

www.zanichelli.it/contatti/acquisti-e-recesso le voci *Informazioni generali su risorse collegate a libri cartacei e Risorse digitali e libri non nuovi*.

Zanichelli garantisce direttamente all'acquirente la piena funzionalità di tali risorse.

In caso di malfunzionamento rivolgersi a assistenza@zanichelli.it

La garanzia di aggiornamento è limitata alla correzione degli errori e all'eliminazione di malfunzionamenti presenti al momento della creazione dell'opera. Zanichelli garantisce inoltre che le risorse digitali di questo volume sotto il suo controllo saranno accessibili, a partire dall'acquisto, per tutta la durata della normale utilizzazione didattica dell'opera. Passato questo periodo, alcune o tutte le risorse potrebbero non essere più accessibili o disponibili: per maggiori informazioni, leggi my.zanichelli.it/fuoricatalogo

Soluzioni degli esercizi e altri svolgimenti di compiti assegnati

Le soluzioni degli esercizi, compresi i passaggi che portano ai risultati e gli altri svolgimenti di compiti assegnati, sono tutelate dalla legge sul diritto d'autore in quanto elaborazioni di esercizi a loro volta considerati opere creative tutelate, e pertanto non possono essere diffuse, comunicate a terzi e/o utilizzate economicamente, se non a fini esclusivi di attività didattica.

Diritto di TDM

L'estrazione di dati da questa opera o da parti di essa e le attività connesse non sono consentite, salvi i casi di utilizzazioni libere ammessi dalla legge. L'editore può concedere una licenza. La richiesta va indirizzata a tdm@zanichelli.it

Realizzazione editoriale: Epitesto, Milano

Disegni: Giuseppe Maserati

Copertina: Anchora, Milano

Prima edizione: maggio 2022

Ristampa: **prima tiratura**

5 4 3 2 1 2022 2023 2024 2025 2026

Realizzare un libro è un'operazione complessa, che richiede numerosi controlli: sul testo, sulle immagini e sulle relazioni che si stabiliscono tra loro. L'esperienza suggerisce che è praticamente impossibile pubblicare un libro privo di errori. Saremo quindi grati ai lettori che vorranno segnalarceli.

Per segnalazioni o suggerimenti relativi a questo libro rivolgersi a: CEA – Casa Editrice Ambrosiana

viale Romagna 5, 20089 Rozzano (MI)

fax 02 52202260 e-mail: segreteria_cea@ceaedizioni.it

Stampa:

per conto di Zanichelli editore S.p.A.

Via Innerio 34, 40126 Bologna

Indice generale

CAPITOLO 1

Microorganismi e alimenti 1

Luca Cocolin, Marco Gobetti, Erasmo Neviani

PARTE I Principi generali

CAPITOLO 2 3

Il ruolo dei microrganismi negli alimenti 3

Aldo Corsetti, Antonello Paparella, Rosanna Tofalo

2.1 Introduzione 3

2.2 Fonti della contaminazione microbica 4

2.3 Momenti della contaminazione microbica 5

2.4 Interazione ecologica tra microrganismi degli alimenti 5

2.5 Ruolo dei microrganismi nell'alimento: microrganismi virtuosi, alteranti e patogeni 10

2.5.1 Microrganismi virtuosi e microrganismi alteranti 10

2.5.2 Lieviti e funghi filamentosi 17

2.5.3 Microrganismi patogeni 19

BIBLIOGRAFIA 19

CAPITOLO 3

Ecofisiologia dei microrganismi negli alimenti 21

Francesca Patrignani, Fausto Gardini, Rosalba Lanciotti

3.1 Introduzione 21

3.2 L'ecosistema Alimento: fattori che influenzano la crescita e la fisiologia microbica negli alimenti 22

3.2.1 Fattori intrinseci 22

3.2.2 Fattori estrinseci 27

3.2.3 Fattori di processo 29

3.2.4 Fattori impliciti 31

3.3 Fisiologia e metabolismo dei microrganismi nell'alimento in rapporto alle sue determinanti ecologiche 32

3.3.1 La glicolisi: flusso del carbonio e fosforilazione a livello del substrato 32

3.3.2 La via di Entner-Doudoroff 34

3.4 Lo stato fisiologico dei microrganismi 34

3.4.1 Cellule danneggiate e cellule vive ma non coltivabili 34

3.4.2 Il *quorum sensing* 39

3.4.3 Il biofilm 39

BIBLIOGRAFIA 41

CAPITOLO 4

La determinazione dei microrganismi negli alimenti 43

Francesca De Filippis, Luca Cocolin, Danilo Ercolini

4.1 Introduzione 43

4.2 Il campionamento degli alimenti 43

4.3 La numerazione dei microrganismi negli alimenti 45

4.3.1 Metodi diretti 45

4.3.2 Metodi indiretti 46

4.4 Isolamento in coltura pura e classificazione preliminare 51

4.5 L'identificazione microbica: alcune definizioni 53

4.5.1 L'identificazione su base fenotipica 53

4.5.2 L'identificazione su base molecolare 54

4.6 Cenni su tecniche di tipizzazione 56

4.6.1 La tipizzazione su base molecolare 56

4.6.2 La tipizzazione con metodi immunologici 57

4.7 Tecniche coltura-indipendenti per lo studio dei microrganismi in comunità 58

4.7.1 Tecniche elettroforetiche 58

4.7.2 La metagenomica 59

CAPITOLO 5

Misure di controllo dei microrganismi negli alimenti 61

Eugenio Parente, Annamaria Ricciardi, Teresa Zotta

5.1 I principi del controllo dei microrganismi 61

5.1.1 Rischio biologico, deterioramento, fermentazione: tre aspetti dello stesso problema 61

5.2 Asepsi, prevenzione e mitigazione della contaminazione, rimozione fisica dei microrganismi 62

BOX Approcci quantitativi alla prevenzione del rischio 63

5.3 Il controllo della crescita 64

5.3.1 Il pH e l'acidità degli alimenti e il controllo mediante l'acidificazione 64

5.3.2 Il controllo dei microrganismi mediante la riduzione dell'attività dell'acqua (a_w) 66

5.3.3 Il controllo dei microrganismi mediante l'aggiunta di conservanti naturali e artificiali 68

BOX Principali additivi alimentari con proprietà antimicrobica 68

5.3.4 Il controllo delle temperature di conservazione 71

5.3.5 Il controllo dei microrganismi mediante il confezionamento 75

5.4 L'inattivazione dei microrganismi mediante trattamenti fisici 76

5.4.1 Target quantitativi per i trattamenti di inattivazione 76

5.4.2 Trattamenti termici tradizionali 78

5.4.3 L'uso di radiazioni per l'inattivazione di microrganismi 81

5.4.4 L'uso dei trattamenti ad alte pressioni 83

5.4.5 Altri trattamenti fisici innovativi 84

5.5 Interazioni tra fattori e teoria degli ostacoli 85

BIBLIOGRAFIA 87

PARTE II I principali gruppi di microrganismi di interesse alimentare

CAPITOLO 6

I cocchi coagulasi negativi 89

Raffaele Coppola, Patrizio Tremonte

- 6.1 Introduzione 89
- 6.2 Tassonomia e caratteristiche generali 91
 - 6.2.1 Staphylococcaceae 91
 - 6.2.2 Micrococccinae 94
- 6.3 Ecologia 96
 - 6.3.1 La presenza negli alimenti 96
- 6.4 Fisiologia 97
 - 6.4.1 Il trasporto degli zuccheri 98
 - 6.4.2 L'ossidazione del glucosio ad acido piruvico 98
 - 6.4.3 Il metabolismo respiratorio 100
 - 6.4.4 Il metabolismo fermentativo 101
- 6.5 Applicazioni biotecnologiche 103
 - 6.5.1 La qualità degli alimenti 103
 - 6.5.2 Salubrità e "naturalità" degli alimenti 104
 - 6.5.3 La sicurezza dei cocchi coagulasi negativi 105

BIBLIOGRAFIA 106

CAPITOLO 7

I batteri lattici 107

Monica Gatti, Giovanna Felis

- 7.1 Caratteristiche generali dei batteri lattici 107
- 7.2 La tassonomia dei batteri lattici applicata agli alimenti 108
 - BOX** La riclassificazione del genere *Lactobacillus* 112
- 7.3 Il metabolismo dei batteri lattici negli alimenti 114
 - 7.3.1 Concetti generali 114
 - 7.3.2 Metabolismi primari 118
 - 7.3.3 Metabolismi secondari 120

BIBLIOGRAFIA 126

CAPITOLO 8

I batteri acetici 128

Maria Gullo, Luciana De Vero

- 8.1 Caratteri generali 128
 - 8.1.1 Nicchie ecologiche di interesse 128
- 8.2 La tassonomia dei batteri acetici di interesse alimentare 129
 - 8.2.1 *Acetobacter* 130
 - 8.2.3 *Gluconobacter* 130
 - 8.2.4 *Gluconacetobacter* 130
 - 8.2.5 *Komagataeibacter* 130
- 8.3 I prodotti del metabolismo ossidativo 131
 - 8.3.1 L'acido acetico 131
 - 8.3.2 I prodotti del metabolismo ossidativo degli zuccheri e dei polioli 131
- 8.4 Isolamento e coltivazione dei batteri acetici 134
- 8.5 La conservazione dei batteri acetici 134
 - 8.5.1 La crioconservazione 135
 - BOX** Principali terreni di coltura per l'isolamento dei batteri acetici 135

- 8.5.2 La liofilizzazione 136
- 8.6 I batteri acetici nelle collezioni microbiche 136
- BIBLIOGRAFIA** 137

CAPITOLO 9

I batteri sporigeni 139

Daniela Bassi, Pier Sandro Cocconcelli

- 9.1 Struttura delle endospore e loro resistenza 139
- 9.2 Il meccanismo di sporulazione 140
- 9.3 La germinazione 142
- 9.4 Spore "superdormant" e rischi nel settore alimentare 143
- 9.5 Il metabolismo energetico dei produttori di endospore di interesse alimentare 144
 - 9.5.1 *Bacillus* 144
 - 9.5.2 *Clostridium* 144
- 9.6 Sporigeni agenti di alterazioni negli alimenti 144
 - 9.6.1 Prodotti da forno 145
 - 9.6.2 Carni refrigerate confezionate sottovuoto 147
 - 9.6.3 Prodotti caseari 147
 - 9.6.4 Prodotti in scatola 148

BIBLIOGRAFIA 149

CAPITOLO 10

Gli enterobatteri 150

Maria Rosaria Corbo, Clelia Altieri, Barbara Speranza

- 10.1 Proprietà comuni degli enterobatteri 150
- 10.2 Caratteristiche tassonomiche 151
- 10.3 Aspetti metabolici 151
- 10.4 Enterobatteri e patogenicità 154
- 10.5 Il ruolo degli enterobatteri negli alimenti 156
 - 10.5.1 Enterobatteri e *spoilage* 156
 - 10.5.2 Gli enterobatteri come indicatori e marker negli alimenti 157

BIBLIOGRAFIA 160

CAPITOLO 11

I lieviti 161

Lisa Granchi

- 11.1 Introduzione 161
- 11.2 Caratteristiche morfologiche 161
- 11.3 Caratteristiche metaboliche 162
 - 11.3.1 Il metabolismo del carbonio 163
 - 11.3.2 Il metabolismo dell'azoto 167
- 11.4 Fattori che influenzano lo sviluppo dei lieviti 167
 - 11.4.1 Ossigeno 167
 - 11.4.2 Acidità e pH 167
 - 11.4.3 Temperatura 167
 - 11.4.4 Osmolarità e attività dell'acqua (a_w) 168
 - 11.4.5 Interazioni tra microrganismi 168
- 11.5 Tassonomia 168
 - 11.5.1 Saccharomycetaceae 169
 - 11.5.2 Saccharomycodaceae 171
 - 11.5.3 Debaryomycetaceae e Metschnikowiaceae 171
 - 11.5.4 Phaffomycetaceae 171
 - 11.5.5 Pichiaceae 171
 - 11.5.6 Dipodascaceae 172
 - 11.5.7 Schizosaccharomycetaceae 172

11.5.8	Sporidiobolaceae	172
11.5.9	Mrakiaceae	172
11.6	Il ruolo dei lieviti negli alimenti	172
11.6.1	Prodotti derivati dal latte	172
11.6.2	Prodotti derivati dalla carne	173
11.6.3	Prodotti ortofrutticoli	173
11.6.4	Prodotti fermentati di origine vegetale	174
11.6.5	Prodotti con alto contenuto di zucchero	175
BIBLIOGRAFIA		175

CAPITOLO 12 177

I funghi filamentosi 177

Giovanna Cristina Varese, Anna Poli, Valeria Prigione

12.1	Introduzione	177
12.2	Inquadramento sistematico	178
12.3	Caratteristiche morfologiche	179
12.4	Metabolismo	181
12.5	Parametri ambientali	182
12.5.1	Ossigeno	182
12.5.2	Acqua	182
12.5.3	Temperatura	182
12.5.4	pH	182
12.6	Modalità riproduttive	183
12.6.1	Il problema nomenclaturale	183
12.7	Funghi contaminanti di cibi e bevande	184
12.7.1	Attività dell'acqua (a_w) e funghi xerofili od osmofili	185
12.7.2	Trattamenti termici e funghi termoresistenti	188
12.7.3	Conservazione a basse temperature e funghi psicofili e psicotolleranti	188
12.7.4	Funghi resistenti ai conservanti	188
12.7.5	Atmosfera protettiva e funghi anaerobi	189
12.7.6	Funghi produttori di micotossine	189
12.8	Isolamento e identificazione dei contaminanti fungini	190
12.9	I funghi filamentosi nella produzione alimentare	191
12.9.1	La produzione di formaggi e salami	191
12.9.2	Gli alimenti fermentati di origine asiatica	192
12.9.3	Acidi organici, enzimi, vitamine, pigmenti e aromi	193
12.10	I funghi come alimento	195
12.10.1	Micoproteine	195
12.10.2	Funghi commestibili	196
BIBLIOGRAFIA		196

PARTE III Le malattie a trasmissione alimentare

CAPITOLO 13

Le malattie a trasmissione alimentare 197

Valentina Bernini, Kalliopi Rantsiou

13.1	La manifestazione delle malattie a trasmissione alimentare	197
13.2	Infezione e intossicazione	197
13.3	La contaminazione degli alimenti da parte di microrganismi patogeni	198
13.4	La resistenza a sostanze antimicrobiche	198
13.5	Epidemiologia delle malattie a trasmissione alimentare	199
BIBLIOGRAFIA		200

CAPITOLO 14

I microrganismi patogeni per l'uomo, trasmessi con gli alimenti, che causano infezione 201

Valentina Bernini, Kalliopi Rantsiou

14.1	<i>Salmonella</i>	201
14.1.1	Introduzione	201
14.1.2	Aspetti fisiologici	201
14.1.3	La contaminazione degli alimenti	202
14.1.4	Le malattie causate da <i>Salmonella enterica</i>	202
14.1.5	Misure preventive e/o di controllo	202
14.2	<i>Campylobacter</i>	203
14.2.1	Introduzione	203
14.2.2	Aspetti fisiologici	203
14.2.3	La contaminazione degli alimenti	203
14.2.4	La malattia causata da <i>Campylobacter</i>	204
14.2.5	Misure preventive e/o di controllo	204
14.3	<i>Listeria monocytogenes</i>	204
14.3.1	Introduzione	204
14.3.2	Aspetti fisiologici	204
14.3.3	La contaminazione degli alimenti	205
14.3.4	La malattia causata da <i>Listeria monocytogenes</i>	205
14.3.5	Misure preventive e/o di controllo	206
14.4	<i>Escherichia coli</i> patogeni	208
14.4.1	Introduzione	208
14.4.2	<i>Escherichia coli</i> produttori di tossina Shiga (STEC)	208
14.4.3	Aspetti fisiologici	208
14.4.4	La contaminazione degli alimenti	211
14.4.5	La malattia causata da STEC	211
14.4.6	Misure preventive e/o di controllo	211
14.5	<i>Cronobacter</i> spp.	212
14.6	<i>Yersinia</i> spp.	212
14.7	<i>Vibrio</i> spp.	213
14.8	<i>Arcobacter</i> spp.	214
14.9	<i>Shigella</i> spp.	214
BIBLIOGRAFIA		215

CAPITOLO 15

I microrganismi responsabili di intossicazioni alimentari 216

Valentina Bernini, Kalliopi Rantsiou

15.1	<i>Bacillus cereus</i>	216
15.1.1	Introduzione	216
15.1.2	Aspetti fisiologici	216
15.1.3	La contaminazione degli alimenti	217
15.1.4	La malattia causata da <i>Bacillus cereus</i>	217
15.1.5	Misure preventive e/o di controllo	219
15.2	<i>Staphylococcus aureus</i>	219
15.2.1	Introduzione	219
15.2.2	Aspetti fisiologici	219
15.2.3	La contaminazione degli alimenti	220
15.2.4	La malattia causata da <i>Staphylococcus aureus</i>	220
15.2.5	Misure preventive e/o di controllo	221
15.3	<i>Clostridium botulinum</i>	221
15.3.1	Introduzione	221
15.3.2	Aspetti fisiologici	221
15.3.3	La contaminazione degli alimenti	222
15.3.4	La malattia causata da <i>Clostridium botulinum</i>	222
15.3.5	Misure preventive e/o di controllo	224

15.4	<i>Clostridium perfringens</i>	225
15.4.1	Introduzione	225
15.4.2	Aspetti fisiologici	226
15.4.3	La contaminazione degli alimenti	226
15.4.4	La malattia causata da <i>Clostridium perfringens</i>	226
15.4.5	Misure preventive e/o di controllo	227
15.5	Tossine algali	227
15.5.1	Introduzione	227
15.5.2	Sindromi associate all'ingestione di tossine algali	227
15.6	Virus alimentari	229
BIBLIOGRAFIA		230

CAPITOLO 16

La gestione della sicurezza alimentare a livello comunitario, nazionale e del singolo operatore

Sergio Ghidini, Adriana Ianieri, Emanuela Zanardi

16.1	L'analisi del rischio	231
16.1.1	La valutazione del rischio	231
16.1.2	La gestione del rischio	231
16.1.3	La comunicazione del rischio	232
16.2	Il Piano di Autocontrollo nell'industria alimentare	232
16.2.1	I prerequisiti	233
16.2.2	La descrizione del prodotto	233
16.2.3	Il diagramma di flusso	233
16.2.4	Il sistema HACCP	233
16.3	Il controllo ufficiale degli alimenti	235
16.3.1	Autorità competenti in ambito di sicurezza degli alimenti	235
16.3.2	Altre autorità competenti	237
BIBLIOGRAFIA		237

PARTE IV Aspetti microbiologici di alimenti non fermentati

CAPITOLO 17

Acqua e ghiaccio alimentare

Raimondo Gaglio, Luca Settanni

17.1	Introduzione	239
17.2	La potabilità delle acque	240
17.2.1	L'acqua in bottiglia	241
17.2.2	Ulteriori indicatori di qualità microbiologica dell'acqua	241
17.2.3	Il controllo microbiologico	242
17.3	Il ghiaccio alimentare	244
17.3.1	Aspetti microbiologici del ghiaccio alimentare	245
17.3.2	La sopravvivenza dei microrganismi in bevande alcoliche e <i>soft drinks</i>	247
17.3.3	Considerazioni finali sul ghiaccio alimentare	248
BIBLIOGRAFIA		249

CAPITOLO 18

I succhi vegetali

Daniela Campaniello, Milena Sinigaglia, Antonio Bevilacqua

18.1	Succhi di frutta	251
18.1.1	Definizione e classificazione merceologica	251
18.1.2	Composizione	252

18.1.3	Tecnologia di produzione	252
18.1.4	Qualità sensoriale	253
18.2	Succhi vegetali	254
18.2.1	Succo di pomodoro	254
18.2.2	Succo di carota	254
18.3	Bevande fermentate e succhi con probiotici	255
18.3.1	Succhi fermentati	255
18.3.2	Succhi probiotici	255
18.4	Principali cause di alterazione microbiologica	256
18.4.1	Lieviti	256
18.4.2	Funghi pluricellulari	257
18.4.3	Batteri	258
18.4.4	Microrganismi patogeni	259
18.5	Trattamenti termici	259
18.5.1	Alte temperature per tempi lunghi (HTLT)	259
18.5.2	Alte temperature per tempi brevi (HTST)	260
18.5.3	Temperature blande per tempi lunghi (MILT)	260
18.5.4	Temperature blande per tempi brevi (MTST)	260
18.5.5	Microonde (MWH)	260
18.5.6	Riscaldamento ohmico (OH)	261
18.6	Trattamenti non termici	261
18.6.1	Alte pressioni idrostatiche	261
18.6.2	Alte pressioni di omogeneizzazione	262
18.6.3	Ultrasuoni	262
18.6.4	Campi elettrici pulsati (PEF)	263
18.7	Tecniche analitiche e rilevazione delle frodi commerciali	263
BIBLIOGRAFIA		265

CAPITOLO 19

Il microbiota del latte

Giorgio Giraffa, Domenico Carminati

19.1	Introduzione	266
19.2	Fonti di contaminazione microbica del latte	267
19.3	Composizione microbica dei diversi tipi di latte	267
19.3.1	Latte di vacca	267
19.3.2	Latte di capra	268
19.3.3	Latte di pecora	269
19.3.4	Latte di bufala	269
19.4	Microrganismi di rilevanza sanitaria	269
19.4.1	Patogeni	270
19.4.2	Virus	274
19.4.3	Batteri antibiotico-resistenti	274
19.5	Microrganismi contaminanti e alteranti	275
19.5.1	Sviluppo microbico durante la refrigerazione ed effetti su qualità e conservabilità del latte	275
19.5.2	Il microbiota del latte trattato termicamente	276
19.6	Polveri e altri concentrati di latte	277
19.7	Normativa	278
BIBLIOGRAFIA		279

CAPITOLO 20

La carne

Giuseppe Comi, Lucilla Iacumin

20.1	Introduzione	281
20.2	Fonti di contaminazione	282
20.2.1	Allevamento e trasporto	283
20.2.2	Macellazione	283

20.2.3	Frollatura o maturazione	288	22.6.1	Il deterioramento delle uova dovuto a sviluppo batterico	317
20.2.4	Carni PSE e DFD	290	22.6.2	Il deterioramento delle uova dovuto a sviluppo fungino	317
20.2.5	Conservazione/Sezionamento/Confezionamento	290	22.7	Microrganismi patogeni in uova e ovoprodotti	318
20.2.6	Metodi di riduzione carica microbica	292	22.7.1	<i>Salmonella</i>	318
20.3	Fattori influenzanti la crescita microbica	292	22.7.2	<i>Bacillus cereus</i>	318
20.3.1	Refrigerazione	292	22.7.3	<i>Campylobacter</i> e <i>Listeria monocytogenes</i>	318
20.3.2	Congelamento	292	BIBLIOGRAFIA		319
20.3.3	Umidità, attività dell'acqua (a_w) e umidità relativa ambientale (UR)	293			
20.3.4	Potenziale ossidoriduttivo	293	CAPITOLO 23		
20.4	Patogeni delle carni	293	Prodotti ortofruttili	320	
20.5	Popolazione microbica alterante	294	<i>Cinzia Caggia, Cinzia Lucia Randazzo, Alessandra Pino</i>		
20.6	Criteri microbiologici relativi alle carni fresche	296	23.1	Introduzione: il settore dei prodotti ortofruttili	320
BIBLIOGRAFIA		296	23.2	I prodotti ortofruttili	320
			23.2.1	I prodotti ortofruttili trasformati	324
CAPITOLO 21			23.3	Principali alterazioni dei prodotti ortofruttili in post-raccolta	326
Alimenti ittici	298		23.4	Microbiologia dei prodotti ortofruttili	327
<i>Antonello Paparella, Annalisa Serio, Clemencia Chaves López</i>			23.4.1	Principali fonti di contaminazione dei prodotti ortofruttili trasformati	328
21.1	Introduzione	298	23.5	Il processo produttivo	330
21.2	Classificazione degli alimenti ittici	298	23.5.1	Scottatura/ <i>blanching</i>	333
21.3	Fonti e momenti della contaminazione microbica	299	23.5.2	Confezionamento	333
21.4	Il microbiota degli alimenti ittici	301	23.6	La <i>shelf-life</i> dei prodotti ortofruttili	334
21.5	Differenze tra muscolo dei pesci e dei mammiferi	302	23.6.1	L'imballaggio	335
21.6	Ecologia microbica del pesce refrigerato in aerobiosi	303	23.6.2	Il confezionamento in atmosfera modificata	336
21.7	Ecologia microbica del pesce refrigerato sottovuoto e in atmosfera protettiva	304	23.7	Trattamenti alternativi	337
21.8	Ecologia microbica degli alimenti ittici trasformati	305	23.8	La sicurezza microbiologica	338
21.9	Processi degradativi nel pesce fresco e negli alimenti ittici trasformati	306	23.8.1	La gestione dei sistemi di sicurezza alimentare per i prodotti ortofruttili trasformati	339
21.10	Caratteristiche differenziali dell'ecologia microbica di molluschi, crostacei ed echinodermi	308	23.9	Pericoli microbiologici	341
21.11	Patogeni negli alimenti ittici	309	23.10	Legislazione di riferimento	342
BIBLIOGRAFIA		309	23.11	Prospettive future	343
			BIBLIOGRAFIA		344
CAPITOLO 22					
Microbiologia delle uova e degli ovoprodotti	311		CAPITOLO 24		
<i>Roberto Foschino, Claudia Picozzi</i>			Consere alimentari	346	
22.1	Specie avicole e razze ovaiole	311	<i>Lucia Vannini, Lorenzo Siroli, Andrea Gianotti</i>		
22.1.1	Tipi di allevamento	311	24.1	Introduzione	346
22.2	Formazione, struttura e composizione dell'uovo	312	24.2	Definizione e tipologie di conserve alimentari	347
22.2.1	Formazione	312	24.3	Tecnologia di produzione	348
22.2.2	Struttura e composizione	312	24.3.1	Preparazione	348
22.2.3	Meccanismi naturali di difesa dell'uovo	313	24.3.2	Pretrattamento	348
22.3	Il microbiota del guscio	314	24.3.3	Confezionamento	349
22.3.1	Fattori che condizionano l'accesso dei microrganismi	314	24.3.4	Trattamento termico	349
22.3.2	La contaminazione microbica del guscio	314	24.3.5	Raffreddamento	349
22.4	La normativa sulla produzione e sulla vendita delle uova	315	24.3.6	Conservazione e distribuzione	349
22.4.1	La classificazione delle uova	315	24.4	Aspetti microbiologici e fattori di controllo	350
22.4.2	Il sistema di rintracciabilità	315	24.5	Criteri microbiologici per le conserve alimentari	352
22.4.3	Criteri microbiologici	315	24.6	Alterazioni delle conserve alimentari	352
22.5	La produzione di ovoprodotti	316	24.6.1	Deterioramento da batteri termofili	355
22.5.1	Definizione di ovoprodotti	316	24.6.2	Deterioramento da batteri mesofili	356
22.5.2	Tecnologie di trattamento	317	24.6.3	Deterioramento da lieviti	357
22.6	Le alterazioni causate da microrganismi	317	24.6.4	Deterioramento da funghi filamentosi	357
			BIBLIOGRAFIA		358

PARTE V Le fermentazioni alimentari**CAPITOLO 25****Le fermentazioni alimentari: concetti generali e aspetti metabolici** 359*Luca Cocolin, Marco Gobetti, Erasmo Neviani*

25.1	Introduzione	359
25.2	Cenni storici	359
25.3	Aspetti biochimici	360
25.4	Le fermentazioni alimentari	361
25.5	Fermentazioni spontanee vs inoculate	362
25.6	Gli alimenti fermentati e la salute umana	363
25.7	Conclusioni	364
BIBLIOGRAFIA		365

CAPITOLO 26**Gli starter microbici** 366*Vittorio Capozzi, Giuseppe Spano, Sandra Torriani*

26.1	Evoluzione delle produzioni fermentate e starter microbici	366
26.2	Definizioni di starter microbici: la prospettiva dei diversi portatori di interesse	368
BOX	Definizioni di "coltura starter" riportate nella letteratura scientifica di riferimento	369
26.3	Classificazione delle colture starter	370
26.4	Starter microbici e salute pubblica, contesto normativo, status QPS e problematiche emergenti legate alla sicurezza	373
26.5	Processi di produzione delle colture starter	376
BOX	Principali modalità di conservazione degli starter microbici per la distribuzione	377
26.6	Biodiversità microbica, criteri di selezione e approcci di miglioramento	377
26.7	Indicazioni Geografiche, produzioni tradizionali/artigianali e starter autoctoni	379
BIBLIOGRAFIA		381

CAPITOLO 27**Yogurt e bevande fermentate a base latte** 383*Diego Mora, Stefania Arioli*

27.1	Cenni storici	383
27.2	Microbiologia dello yogurt e delle bevande fermentate a base latte	384
27.3	Caratteristiche dello yogurt e delle principali bevande fermentate a base latte	385
27.3.1	Lo yogurt	385
27.3.2	Il kefir	390
27.3.3	Il kumiss	392
BIBLIOGRAFIA		392

CAPITOLO 28**Formaggi e burro** 394*Monica Gatti, Erasmo Neviani*

28.1	Introduzione	394
28.2	Il latte come materia prima trasformabile	395
28.2.1	Frazione glucidica	396
28.2.2	Frazione azotata	396
BOX	Il caglio	397

28.2.3	Frazione lipidica	398
28.2.4	Acidi organici	398
28.2.5	Sali minerali e oligoelementi	398
28.2.6	Vitamine	398
28.2.7	Componenti odorosi del latte	398
28.2.8	Presenza di ormoni e di residui di sostanze contaminanti	399
28.2.9	Principali caratteristiche chimico-fisiche	399
28.3	Il formaggio	399
28.3.1	Cenni storici, definizione e classificazione	400
28.3.2	Microrganismi di interesse lattiero-caseario	401
28.3.3	Il coinvolgimento microbico nei processi di caseificazione	403
BOX	L'infezione fagica	407
28.3.4	Interazioni tra microrganismi e caseificazione	412
28.3.5	Difetti di origine microbiologica nei formaggi	419
28.4	Il burro	421
28.4.1	Aspetti microbiologici del burro: maturazione e alterazione	421
28.5	Normativa vigente per il settore caseario	422
28.6	Principali pericoli microbiologici	422
28.6.1	<i>Listeria monocytogenes</i>	422
28.6.2	<i>Salmonella</i>	423
28.6.3	<i>Escherichia coli</i>	423
28.6.4	<i>Staphylococcus aureus</i>	423
28.6.5	<i>Bacillus cereus</i>	423
28.6.6	Genere <i>Clostridium</i>	423
28.6.7	<i>Brucella</i>	424
28.6.8	<i>Mycobacterium</i>	424
28.6.9	Pericoli riconducibili a metaboliti microbici	424
BIBLIOGRAFIA		424

CAPITOLO 29**Salami crudi fermentati** 425*Fausto Gardini, Rosalba Lanciotti, Giulia Tabanelli*

29.1	Introduzione	425
29.2	Materia prima e ingredienti	426
29.3	Aspetti fondamentali del processo di produzione	426
29.3.1	Preparazione dell'impasto	427
29.3.2	Insaccatura	429
29.3.3	Stagionatura e disidratazione	429
29.4	Microrganismi coinvolti nei processi di trasformazione	433
29.4.1	Batteri lattici	433
BOX	Ciclo dell'arginina deiminasi (ADI) in <i>Lactobacillus sakei</i>	433
29.4.2	Stafilococchi e micrococchi	434
29.4.3	Funghi	435
29.4.4	Microrganismi alterativi	435
29.4.5	Microrganismi patogeni o produttori di tossine	435
29.4.6	Microrganismi produttori di ammine biogene	436
29.5	Impiego di colture starter	436
29.5.1	<i>Lactobacillus sakei</i>	436
29.5.2	<i>Lactobacillus curvatus</i>	437
29.5.3	<i>Lactiplantibacillus plantarum</i>	437
29.5.4	<i>Pediococcus</i>	437
29.5.5	<i>Staphylococcus</i>	438
29.5.6	Funghi filamentosi	438
BIBLIOGRAFIA		438

CAPITOLO 30	439	32.3 I crauti	478
Prodotti fermentati a base di pesce	439	32.3.1 La fermentazione spontanea dei crauti	480
<i>Andrea Osimani, Cristiana Garofalo, Lucia Aquilanti</i>		32.3.2 L'uso di colture microbiche starter nella produzione dei crauti	481
30.1 Introduzione	439	32.4 Il kimchi	482
30.2 Il pesce come materia prima trasformabile	440	32.5 La salsa di soia	482
30.3 I processi di trasformazione e la microbiologia dei prodotti ittici fermentati	442	32.5.1 Il processo di fermentazione	482
30.3.1 Africa	442	32.5.2 Gli starter	484
30.3.2 America	443	32.6 Il kombucha	484
30.3.3 Asia	444	32.6.1 Il consorzio microbico	485
30.3.4 Europa	446	32.6.2 Il processo di fermentazione e le dinamiche microbiche	485
30.4 I prodotti fermentati a base di pesce e l'uso di colture starter	447	32.7 La fermentazione lattica applicata alla produzione di bevande innovative a base di frutta e ortaggi	487
30.5 Aspetti nutrizionali, sensoriali e salutistici dei prodotti fermentati a base di pesce	448	BIBLIOGRAFIA	488
BIBLIOGRAFIA	451		
CAPITOLO 31		CAPITOLO 33	
Pane e altri prodotti lievitati da forno	453	Il cacao e il caffè	489
<i>Marco Gobetti, Aldo Corsetti</i>		<i>Valentina Alessandria, Luca Cocolin</i>	
31.1 Introduzione	453	33.1 Il cacao	489
31.2 Definizione e classificazione del pane e dei prodotti lievitati da forno	454	33.1.1 Introduzione	489
31.3 Materie prime e processo produttivo	454	33.1.2 La pianta di cacao	489
31.3.1 Le materie prime	455	33.1.3 La fermentazione del cacao	490
31.3.2 Il processo produttivo	456	33.1.4 L'essiccazione delle fave	495
31.4 Agenti lieviti: il lievito di birra e il lievito naturale	457	33.1.5 L'utilizzo delle colture starter nella fermentazione del cacao	495
31.4.1 Il lievito di birra	457	33.1.6 Metodi utilizzati per lo studio del microbiota del cacao	496
31.4.2 Il lievito naturale	458	33.1.7 Conclusioni e prospettive future	496
31.5 Descrizione dei lieviti e dei batteri lattici coinvolti nel processo di fermentazione	460	33.2 Il caffè	496
31.6 Fisiologia e biochimica dei lieviti e dei batteri lattici	461	33.2.1 Introduzione	496
31.6.1 I lieviti	461	33.2.2 Componenti del frutto del caffè	497
31.6.2 I batteri lattici	463	33.2.3 La raccolta e i trattamenti post-raccolta del caffè	497
31.6.3 L'interazione tra lieviti e batteri lattici	464	33.2.4 Attività microbiche e impatto sulla qualità del caffè	498
31.7 Gli attributi sensoriali e reologici dei prodotti da forno ottenuti con lievito naturale	464	33.2.5 Conclusioni	500
31.8 La contaminazione microbica dei prodotti lievitati da forno	466	BIBLIOGRAFIA	500
31.8.1 Il deterioramento microbico dei prodotti lievitati da forno	466		
31.9 Esempi di prodotti lievitati da forno	467	CAPITOLO 34	
31.9.1 Pani tipici	468	Il vino	503
31.9.2 Prodotti dolci lievitati	469	<i>Marilena Budroni, Maurizio Ciani, Giacomo Zara</i>	
31.9.3 Prodotti da forno senza glutine	470	34.1 La vite e l'uva	503
31.10 Aspetti nutrizionali	470	34.2 Il microbiota delle uve	504
31.11 La normativa vigente	472	34.2.1 Fattori che influenzano la comunità dei lieviti	505
BIBLIOGRAFIA	473	34.3 Il microbiota della cantina	505
		34.4 La fermentazione spontanea	507
		BOX I processi di vinificazione	508
		34.4.1 Fattori che influenzano la presenza e la successione dei lieviti durante la fermentazione spontanea	509
CAPITOLO 32	474	34.5 I principali lieviti non-Saccharomyces	509
I prodotti fermentati di origine vegetale	474	34.6 La fermentazione guidata	511
<i>Raffaella Di Cagno, Pasquale Filanino</i>		34.6.1 Utilizzo degli starter selezionati	512
32.1 Introduzione	474	34.6.2 Caratteristiche dei lieviti selezionati	512
32.2 Le olive da mensa	475	BOX <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	513
32.2.1 Deamarizzazione delle drupe	475	BOX La particolare regolazione del metabolismo respiro-fermentativo in <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	513
32.2.2 Principali metodi di lavorazione	476	BOX Organismi geneticamente modificati (OGM) e vino	514
32.2.3 Microrganismi deterioranti delle olive da tavola	478		
32.2.4 La riduzione del sale nella lavorazione delle olive da tavola	478		

34.7	Le fermentazioni miste	514
34.8	I batteri lattici nel vino	515
34.8.1	Il metabolismo dei batteri lattici nel vino	515
34.8.2	La fermentazione malolattica spontanea	516
34.8.3	La fermentazione malolattica guidata	517
34.9	Malattie del vino	517
34.9.1	Funghi	517
34.9.2	Lieviti	518
34.9.3	Batteri	518
34.10	I vini speciali	519
34.10.1	Vini dolci da dessert	519
34.10.2	Vini spumanti	520
34.10.3	Vini affinati biologicamente	520
34.10.4	Vini novelli e vini fortificati	521
34.11	Le sfide future	521
34.11.1	Il cambiamento climatico	521
34.11.2	Le regole e la concorrenza nel mercato globale	521
BIBLIOGRAFIA		522

CAPITOLO 35

La birra	523	
<i>Emanuela Zannini, Francesca Comitini, Laura Canonico</i>		
35.1	Storia della birrificazione	523
35.2	Le materie prime	524
35.2.1	L'acqua	524
35.2.2	Il malto	525
35.2.3	Il luppolo	527
35.2.4	Il lievito	527
35.3	Il processo di produzione della birra	528
35.3.1	La maltizzazione	528
35.3.2	L'ammortatura	529
35.3.3	La fermentazione	531
35.3.4	Il downstream	531
35.4	I lieviti convenzionali nel processo di birrificazione	532
35.5	I lieviti non-convenzionali nella produzione di birra	534
35.6	Definizione e classificazioni dei diversi stili brassicoli e birre innovative	535
35.6.1	Le birre a basso contenuto calorico	535
35.6.2	Le birre a basso contenuto di alcol e le birre analcoliche	535
35.6.3	La birra senza glutine	536
35.7	I difetti microbiologici della birra	536
BIBLIOGRAFIA		537

CAPITOLO 36

L'aceto	539	
<i>Maria Gullo, Luciana De Vero</i>		
36.1	Introduzione	539
36.2	Gli aceti: dalle definizioni alle tipologie	539
36.3	I processi di fermentazione	540
36.3.1	La fermentazione in sommerso	540
BOX	Tipologie di aceto maggiormente diffuse in Italia	541
36.3.2	La fermentazione in sistema statico superficiale	542
36.4	Aceto Balsamico Tradizionale di Modena e Aceto Balsamico Tradizionale di Reggio Emilia	543
36.5	Aceto di vino e aceto di frutta	544
36.6	Aceti di cereali	545

36.7	Le colture starter per la produzione di aceto: aspetti consolidati ed emergenti	545
36.8	Le alterazioni dell'aceto di natura microbiologica	547
BIBLIOGRAFIA		549

CAPITOLO 37

Bioprocessi e ingredienti di origine microbica	551	
<i>Camilla Lazzi, Carlo Giuseppe Rizzello</i>		
37.1	Biotechnologie e processi	551
37.1.1	Introduzione	551
37.1.2	La fermentazione su substrato liquido e solido: principi	552
37.1.3	I fermentatori	554
37.1.4	L'immobilizzazione di cellule ed enzimi	557
37.1.5	Recupero e stabilizzazione dei prodotti biotecnologici	557
37.2	La produzione microbica di ingredienti e additivi alimentari	559
37.2.1	Introduzione	559
37.2.2	Proteine e proteine ricombinanti	560
37.2.3	Amminoacidi	561
37.2.4	Esaltatori di sapidità	561
37.2.5	Acidi organici	562
37.2.6	Etanolo e polialcoli	562
37.2.7	Pigmenti	563
37.2.8	Polisaccaridi e prebiotici	563
37.2.9	Nutraceutici	565
37.2.10	Scarti alimentari e fermentazioni industriali	567
37.3	La gestione dei reflui dell'industria alimentare	568
37.3.1	La depurazione biologica dei reflui: il processo aerobio	569
37.3.2	La digestione anaerobia	569
BIBLIOGRAFIA		570

PARTE VI Il microbiota umano**CAPITOLO 38**

Il microbioma umano: nozioni introduttive	571	
<i>Ilario Ferrocino, Maria De Angelis</i>		
38.1	Il corpo umano come nicchia ecologica	571
38.2	Il microbioma cutaneo	571
38.3	Il microbioma vaginale	574
38.4	Il microbioma delle vie respiratorie	575
38.5	Il microbioma dell'apparato digerente	575
38.5.1	Il microbiota	578
38.5.2	Il micobiota	579
38.5.3	Il viroma	580
38.5.4	Gli Archaea	580
38.6	Le funzioni del microbioma intestinale	582
38.7	I fattori che influenzano il microbioma intestinale	583
38.7.1	La composizione del microbioma intestinale durante il corso della vita	584
38.7.2	La dieta: uno dei più importanti modulatori del microbioma intestinale	586
38.8	Attività microbiche e omeostasi intestinale: un delicato equilibrio tra salute e malattia	589
38.8.1	Influenze microbiche sull'ospite ed educazione del sistema immunitario	590

38.8.2 L'effetto dei metaboliti microbici nel mantenimento dell'omeostasi intestinale	591
38.8.3 Interazioni microbiche	592
38.8.4 La metilazione del DNA per controllare l'omeostasi intestinale e l'infiammazione	592
38.9 Il microbioma intestinale nello stato di salute o malattia	594
38.9.1 La disbiosi intestinale nell'obesità e il diabete mellito di tipo 2	594
38.9.2 La disbiosi intestinale nelle malattie cardio-metaboliche	597
38.9.3 La disbiosi intestinale nelle malattie metaboliche del fegato	597
38.9.4 L'asse intestino-cervello umano	597
BIBLIOGRAFIA	600

CAPITOLO 39**Probiotici e prebiotici***Lorenzo Morelli*

39.1 Cenni storici	602
39.2 Definizioni	602
39.3 Postbiotici, psicobiotici, batteri tinalizzati, farmabiotici, agenti bioterapeutici	606
39.4 Ecologia microbica intestinale	606
39.5 Il microbiota intestinale	607
39.6 I batteri probiotici: la selezione	608
39.7 Ceppi probiotici e brevetti	610
39.8 Le funzioni dei batteri probiotici	611
39.9 L'efficacia dei batteri probiotici	612
39.9.1 Meccanismi d'azione	612
39.10 Le tipologie merceologiche	613
39.11 Alimenti probiotici e matrice alimentare	613
39.12 I probiotici nell'alimentazione animale	614
39.13 Gli alimenti prebiotici	614
BIBLIOGRAFIA	614

CAPITOLO 40**Alimenti funzionali***Marco Gobetti, Benedetta Bottari*

40.1 Definizioni di alimento funzionale	616
40.2 Il mercato degli alimenti funzionali	617
40.3 Quadro normativo	618
40.4 Effetti degli alimenti funzionali	618
40.5 Cenni sugli alimenti funzionali non fermentati	620
40.5.1 Alimenti funzionali di origine animale	620
40.5.2 Alimenti funzionali di origine vegetale	621
40.6 Alimenti funzionali fermentati	623
40.6.1 Alimenti funzionali fermentati lattiero-caseari	624
40.6.2 Alimenti funzionali fermentati dei vegetali	626
40.7 Alimenti fermentati come veicolo di microrganismi probiotici	634
BIBLIOGRAFIA	636

APPENDICE A**Modelli matematici per la crescita, inattivazione
e sopravvivenza microbica***Eugenio Parente, Annamaria Ricciardi, Teresa Zotta*

A.1 Andare a tentoni o pensare per modelli? Nascita e ascesa della Microbiologia predittiva	638
A.2 La natura dei modelli matematici	638
A.2.1 Modelli primari per la crescita	638
A.2.2 Modelli primari per l'inattivazione e la sopravvivenza	642
A.3 Modelli secondari: l'effetto dell'ambiente e dei trattamenti tecnologici sulle cinetiche di crescita, morte e sopravvivenza	643
A.3.1 Modelli secondari per la crescita	643
A.3.2 Modelli secondari per l'inattivazione	643
A.3.3 Modelli probabilistici	644
A.4 Software e database per la microbiologia predittiva	644
BIBLIOGRAFIA	644
Indice analitico	645

Autori

Prof.ssa Valentina Alessandria

Università degli Studi di Torino
Capitolo 33

Prof.ssa Clelia Altieri

Università di Foggia
Capitolo 10

Prof.ssa Lucia Aquilanti

Università Politecnica Delle Marche
Capitolo 30

Prof.ssa Stefania Arioli

Università degli Studi di Milano
Capitolo 27

Prof.ssa Daniela Bassi

Università Cattolica del Sacro Cuore
Capitolo 9

Prof.ssa Valentina Bernini

Università di Parma
Capitoli 13, 14, 15

Prof. Antonio Bevilacqua

Università di Foggia
Capitolo 18

Prof.ssa Benedetta Bottari

Università di Parma
Capitolo 40

Prof.ssa Marilena Budroni

Università degli Studi di Sassari
Capitolo 34

Prof.ssa Cinzia Caggia

Università degli Studi di Catania
Capitolo 23

Dr.ssa Daniela Campaniello

Università di Foggia
Capitolo 18

Dr.ssa Laura Canonico

Università Politecnica delle Marche
Capitolo 35

Dr. Vittorio Capozzi

CNR, Consiglio Nazionale delle Ricerche
Capitolo 26

Dr. Domenico Carminati

CREA, Consiglio per la ricerca in
agricoltura e l'analisi dell'economia agraria
Capitolo 19

Prof.ssa Clemencia Chaves López

Università degli Studi di Teramo
Capitolo 21

Prof. Maurizio Ciani

Università Politecnica delle Marche
Capitolo 34

Prof. Pier Sandro Cocconcelli

Università Cattolica del Sacro Cuore
Capitolo 9

Prof. Luca Cocolin

Università degli Studi di Torino
Capitoli 1, 4, 25, 33

Prof. Giuseppe Comi

Università degli Studi di Udine
Capitolo 20

Prof.ssa Francesca Comitini

Università Politecnica delle Marche
Capitolo 35

Prof. Raffaele Coppola

Università degli Studi del Molise
Capitolo 6

Prof.ssa Maria Rosaria Corbo

Università di Foggia
Capitolo 10

Prof. Aldo Corsetti

Università degli Studi di Teramo
Capitoli 2, 31

Prof.ssa Maria De Angelis

Università degli Studi di Bari Aldo Moro
Capitolo 38

Dr.ssa Francesca De Filippis

Università degli Studi di Napoli Federico II
Capitolo 4

Dr.ssa Luciana De Vero

Università degli Studi di Modena e Reggio
Emilia
Capitoli 8, 36

Prof.ssa Raffaella Di Cagno

Libera Università di Bolzano
Capitolo 22

Prof. Danilo Ercolini

Università degli Studi di Napoli Federico II
Capitolo 4

Prof.ssa Giovanna Felis

Università degli Studi di Verona
Capitolo 7

Prof. Ilario Ferrocino

Università degli Studi di Torino
Capitolo 38

Prof. Pasquale Filannino

Università degli Studi di Bari Aldo Moro
Capitolo 32

Prof. Roberto Foschino

Università degli Studi di Milano
Capitolo 22

Dr. Raimondo Gaglio

Università degli Studi di Palermo
Capitolo 17

Prof. Fausto Gardini

Alma Mater Studiorum, Università di
Bologna
Capitoli 3, 29

Prof.ssa Cristiana Garofalo

Università Politecnica Delle Marche
Capitolo 30

Prof.ssa Monica Gatti

Università di Parma
Capitoli 7, 28

Prof. Sergio Ghidini

Università di Parma
Capitolo 16

Prof. Andrea Gianotti

Alma Mater Studiorum, Università di
Bologna
Capitolo 24

Dr. Giorgio Giraffa

CREA, Consiglio per la ricerca in
agricoltura e l'analisi dell'economia agraria
Capitolo 19

Prof. Marco Gobetti

Libera Università di Bolzano
Capitoli 1, 25, 31, 40

Prof. Lisa Granchi

Università degli Studi di Firenze
Capitolo 11

Prof.ssa Maria Gullo

Università degli Studi di Modena e Reggio Emilia
Capitoli 8, 36

Prof.ssa Lucilla Iacumin

Università degli Studi di Udine
Capitolo 20

Prof.ssa Adriana Ianieri

Università di Parma
Capitolo 16

Prof.ssa Rosalba Lanciotti

Alma Mater Studiorum, Università di Bologna
Capitoli 3, 29

Prof.ssa Camilla Lazzi

Università di Parma
Capitolo 37

Prof. Diego Mora

Università degli Studi di Milano
Capitolo 27

Prof. Lorenzo Morelli

Università Cattolica del Sacro Cuore
Capitolo 39

Prof. Erasmo Neviani

Università di Parma
Capitoli 1, 25, 28

Prof. Andrea Osimani

Università Politecnica Delle Marche
Capitolo 10

Prof. Antonello Paparella

Università degli Studi di Teramo
Capitoli 2, 21

Prof. Eugenio Parente

Università degli Studi della Basilicata
Capitolo 5, Appendice A

Prof.ssa Francesca Patrignani

Alma Mater Studiorum, Università di Bologna
Capitolo 3

Prof.ssa Claudia Picozzi

Università degli Studi di Milano
Capitolo 22

Dr.ssa Alessandra Pino

Università degli Studi di Catania
Capitolo 23

Dr.ssa Anna Poli

Università degli Studi di Torino
Capitolo 12

Prof.ssa Valeria Prigione

Università degli Studi di Torino
Capitolo 12

Prof.ssa Cinzia Lucia Randazzo

Università degli Studi di Catania
Capitolo 23

Prof.ssa Kalliopi Rantsiou

Università degli Studi di Torino
Capitoli 13, 14, 15

Prof.ssa Annamaria Ricciardi

Università degli Studi della Basilicata
Capitolo 5, Appendice A

Prof. Carlo Giuseppe Rizzello

Sapienza Università di Roma
Capitolo 37

Prof.ssa Annalisa Serio

Università degli Studi di Teramo
Capitolo 21

Prof. Luca Settanni

Università degli Studi di Palermo
Capitolo 17

Prof.ssa Milena Sinigaglia

Università di Foggia
Capitolo 18

Dr. Lorenzo Siroli

Alma Mater Studiorum, Università di Bologna
Capitolo 24

Prof. Giuseppe Spano

Università di Foggia
Capitolo 26

Dr.ssa Barbara Speranza

Università di Foggia
Capitolo 10

Dr.ssa Giulia Tabanelli

Alma Mater Studiorum, Università di Bologna
Capitolo 29

Prof.ssa Rosanna Tofalo

Università degli Studi di Teramo
Capitolo 2

Prof.ssa Sandra Torriani

Università degli Studi di Verona
Capitolo 26

Prof. Patrizio Tremonte

Università degli Studi del Molise
Capitolo 6

Prof.ssa Lucia Vannini

Alma Mater Studiorum, Università di Bologna
Capitolo 24

Prof.ssa Giovanna Cristina Varese

Università degli Studi di Torino
Capitolo 12

Prof.ssa Emanuela Zanardi

Università di Parma
Capitolo 16

Dr. Emanuele Zannini

University College Cork
Capitolo 35

Dr. Giacomo Zara

Università degli Studi di Sassari
Capitolo 34

Dr.ssa Teresa Zotta

Università degli Studi della Basilicata
Capitolo 5, Appendice A

9

CAPITOLO

I batteri sporigeni

In sintesi

Diversi gruppi batterici, appartenenti ai *phyla* Actinobacteria e Firmicutes, producono forme cellulari dormienti particolarmente resistenti alle condizioni avverse, definite spore. Questa caratteristica è comune negli actinobatteri del suolo, come *Actinomyces*, *Micromonospora*, *Streptomyces* e in specie degli ordini Bacillales e Clostridiales dei Firmicutes. La struttura della spora e la germinazione sono sostanzialmente differenti tra le specie appartenenti a questi due *phyla*; nel corso di questo capitolo, si tratterà unicamente la sporulazione dei Firmicutes, endospore di interesse alimentare. Le specie di *Bacillus* e *Clostridium*, per l'elevata capacità di sopravvivere a condizioni avverse, quali trattamenti termici, disidratazione e biocidi, sono frequente causa di problemi nelle produzioni alimentari, sia come batteri patogeni responsabili di intossicazioni alimentari (*B. cereus*, *C. botulinum* e *C. perfringens*), sia come agenti di alterazione degli alimenti.

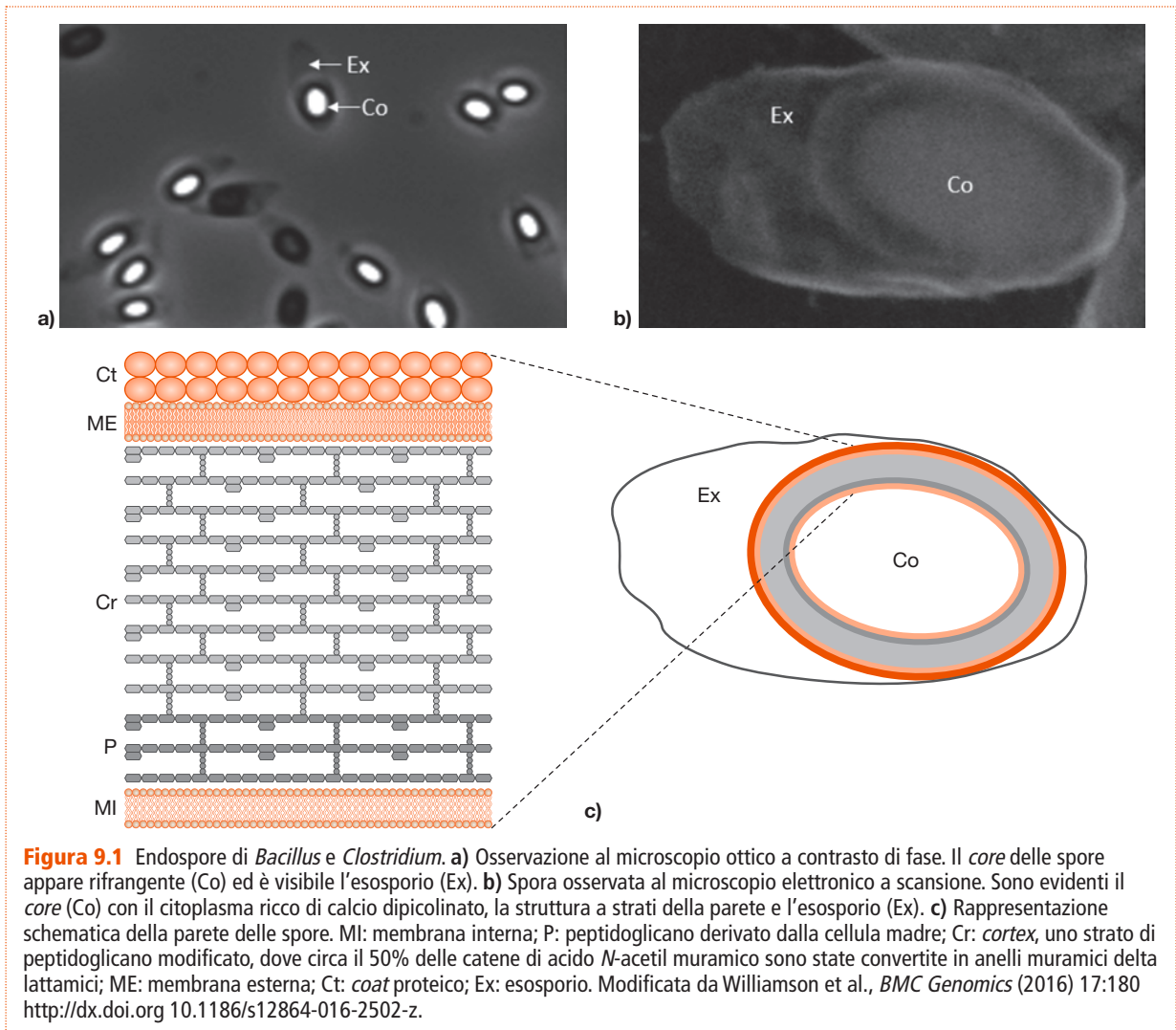
9.1 Struttura delle endospore e loro resistenza

La resistenza della spora a molteplici stimoli ambientali e trattamenti è imputabile alla sua peculiare morfologia a più strati: il *core* centrale con il citoplasma ricco in calcio dipicolinato (CaDPA), la struttura a strati della parete e l'esosporio più esternamente. Partendo dallo strato più interno, la parete risulta, a sua volta, composta da una membrana interna, da uno strato di peptidoglicano (retaggio della cellula madre), dal *cortex* (ulteriore strato di peptidoglicano modificato, dove circa il 50% delle catene di acido *N*-acetil muramico sono state convertite in anelli muramici delta lattamici), da una membrana esterna e dal *coat* proteico (Figura 9.1).

Il *core* gioca un ruolo fondamentale nel garantire la quasi totale disidratazione e mineralizzazione della spora. In particolare, l'esigua quantità d'acqua contenuta nel *core* è il fattore principale che determina la resistenza della spora al calore umido. Generalmente, il contenuto idrico del *core* varia dal 25 al 35%, rispetto all'80% di una cellula vegetativa. Il nucleoide comprende il DNA legato e protetto dalle proteine SASP (*small acid soluble proteins*), da enzimi, da Mg e Mn, dal CaDPA (che contribuisce alla disidratazione) e da una piccola quantità di mRNA, probabilmente utile nelle fasi successive della germinazione, la cui funzione resta ancora argomento di studio. La membrana interna, che

circonda la regione del *core*, è composta prevalentemente da un doppio strato lipidico che si comporta da barriera verso numerose sostanze tossiche e chimiche indesiderate. Il *coat*, la cui composizione è in gran parte di natura proteica, abbraccia la membrana esterna e protegge la spora dall'attacco di enzimi litici e di altri composti chimici. Molte specie hanno il *coat* come strato più esterno, mentre in altre è ulteriormente avvolto dall'esosporio.

Queste proprietà morfologiche, uniche in natura, consentono alla spora dormiente di conservare e proteggere il suo patrimonio genetico oltre che di resistere a numerosi trattamenti. In particolare, l'**esosporio**, che consiste di glucosio, lipidi e proteine, rappresenta la primissima barriera tra la spora e l'ambiente, contribuendo alla difesa verso enzimi idrolitici e anticorpi, oltre che provvedendo alla resistenza allo stress ossidativo generata dai macrofagi. Il *coat* rappresenta la prima linea di difesa contro i trattamenti chimici e consiste di un doppio strato proteico che conferisce resistenza anche agli shock meccanici, alle alte pressioni e agli stimoli elettrici; con le sue proteine e glicoproteine si comporta come un filtro in grado di bloccare enzimi, nutrienti e sostanze chimiche che possono causare un danno alla spora. Il *cortex*, grazie al suo spesso strato di peptidoglicano, glicopeptide (definito anche mucopeptide) e Ca²⁺, rappresenta uno scudo contro i solventi organici, in grado di impedire anche l'ingresso di piccole molecole idrofiliche



all'interno del *core* e conferendo la resistenza agli UV e al calore. Anche la membrana interna gioca un ruolo difensivo verso i composti chimici, proteggendo il *core* centrale, che, a sua volta, grazie al contenuto in ribosomi, enzimi inerti e SASP, conferisce al DNA della spora una protezione molto più efficace rispetto a quella delle cellule vegetative.

Molti sono dunque i fattori che determinano la resistenza della spora ma, se si vogliono riassumere, i principali sono: la presenza del *coat* proteico, il basso contenuto in acqua, gli alti livelli di CaDPA e la presenza di cationi divalenti nel *core*.

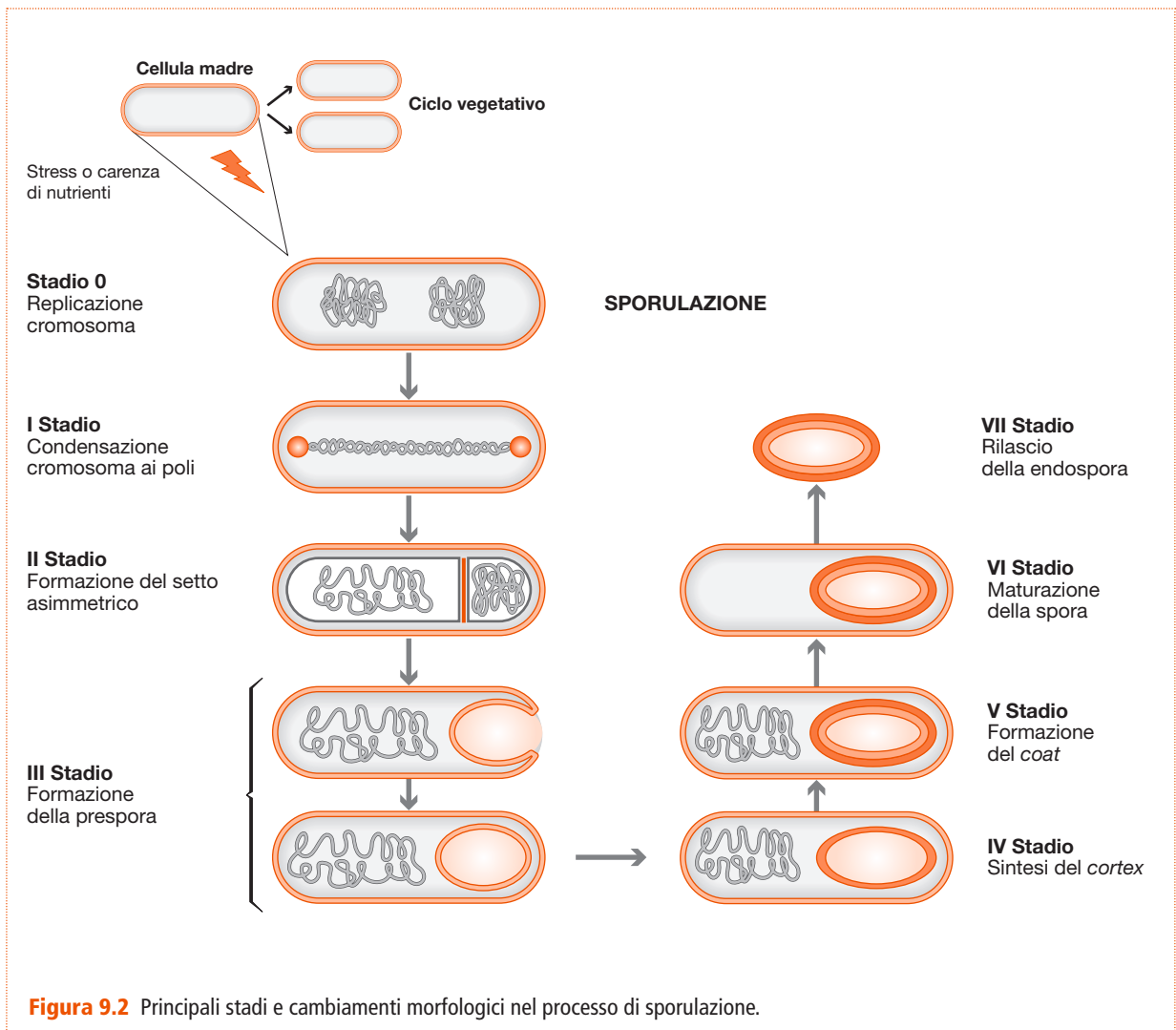
9.2 Il meccanismo di sporulazione

I primi studi per cercare di comprendere nel dettaglio il meccanismo di sporulazione iniziarono nel 1960 quando Fitz-James, grazie alla microscopia elettronica, cercò di spiegare la divisione asimmetrica, lo stadio di *engulfment*

cellulare e la successiva formazione della spora; questi studi portarono alla suddivisione del processo in sette stadi che ancora oggi sono considerati alla base di questo complesso meccanismo (Figura 9.2). Il processo di sporulazione si innesca solitamente in condizioni di stress dovute a limitazione di nutrienti o grazie a segnali di comunicazione cellulare definiti di *quorum sensing* in risposta alla densità cellulare. Dalle conoscenze attuali, non sembra vi sia un inizio di sporulazione a valori di pH, temperatura e a_w differenti da quelli che permettono la crescita.

I sette passaggi che portano alla formazione della spora, successivamente alla replicazione del cromosoma (stadio 0), sono i seguenti:

- **stadio I:** blocco della divisione cellulare, il cromosoma si addensa e si allinea a livello assiale in filamenti;
- **stadio II:** la membrana plasmatica si invagina abbozzando il setto di separazione, il DNA segrega completamente, i nucleoidi si separano e si forma il setto di divisione asimmetrico;



- **stadio III:** formazione della prespora circondata da una doppia membrana (*cortex* primordiale e comparso dell'esosporio) e fase di inglobamento della spora di nuova formazione all'interno della cellula madre (il peptidoglicano del setto viene degradato);
- **stadio IV:** la cellula madre protegge e media lo sviluppo della prespora: vengono assemblate le membrane interna ed esterna a componente proteica e all'interno di queste si ha la sintesi del *cortex* composto da uno spesso strato di peptidoglicano; successivamente si accumula dipicolinato di calcio nel nucleo della nuova spora;
- **stadio V:** formazione del *pre-coat* per deposito di proteine da parte della cellula madre a formare i due strati di cui si compone nella spora matura;
- **stadio VI:** continua la formazione del *coat* e la maturazione della spora che diventa resistente al calore e ai solventi organici;
- **stadio VII:** lisi della cellula madre e rilascio della spora matura.

La regolazione del meccanismo biochimico di sporulazione è mediata da un sistema a cascata di fattori trascrizionali (**fattori sigma**), attivati mediante fosforilazione da parte di proteine chinasi. L'espressione dei geni per la formazione della spora è controllata da sei differenti fattori sigma (definiti A, H, F, E, G e K) attivati nei diversi comparti della spora in formazione.

Studi effettuati sul genere *Bacillus* hanno dimostrato come il massimo livello di sporulazione si ha solitamente a temperatura, pH e a_w ottimali di crescita; ci sono però forti variazioni che dipendono dal ceppo batterico, dai terreni di sporulazione e dalle condizioni di incubazione. Sembra che la composizione del mezzo, in particolare la presenza di cationi mono- e divalenti (Mn^{2+} , Mg^{2+} , Zn^{2+} , Ca^{2+}), possa incrementare il tasso di sporulazione e la successiva stabilizzazione della spora che non andrà incontro a germinazione spontanea. In aggiunta, sembra che il processo di sporulazione e la percentuale di spore prodotte sia amminoacidi- e carboidrati-dipendente. Tali osservazioni sono

state confermate, per esempio, in studi su *Bacillus subtilis* dove l'aggiunta di glucosio e ribosio nel terreno di sporulazione aumentava la resa del processo; sempre in *B. subtilis* concentrazioni ottimizzate di glucosio e Mg^{2+} portano a un incremento del tasso di sporulazione di almeno 17 volte.

9.3 La germinazione

La ricerca, oltre a studiare i meccanismi di base che regolano il complesso ciclo vitale degli sporigeni, si sforza di individuare possibili metodi per una loro rapida e sicura eliminazione. L'interesse, nel caso dei batteri sporigeni, è particolarmente rivolto allo stadio di germinazione, in cui la spora, ritornando in fase vegetativa, perde, in parte, le proprie caratteristiche di resistenza. Per questo, la messa a punto di metodi che inducano la germinazione delle spore, risulta interessante in quanto significa applicare la **strategia "germinazione-inattivazione"** che permette di distruggerle (tanto quanto le cellule vegetative).

Negli ultimi 50 anni, nuove conoscenze sono state acquisite sui principali passaggi del processo di germinazione, ma rimane ancora molto da scoprire sui dettagli di trasduzione del segnale e sulle molecole che scatenano questa fase. A complicare l'analisi, si aggiunge il fatto che il processo di germinazione non ha molti dettagli in comune in altri organismi viventi e differisce persino tra specie e specie all'interno dello stesso genere batterico.

Le spore hanno la capacità di rimanere silenziose per lunghi periodi di tempo pur continuando a sondare, nell'ambiente che le circonda, alla ricerca di possibili *germinants*, ovvero sostanze in grado di innescare la germinazione e la successiva esocrescita.

In natura, infatti, le spore germinano in risposta a specifici induttori definiti *germinants* che in genere si

classificano come singoli amminoacidi, zuccheri o nucleotidi purinici ma possono essere anche combinazioni di questi con nutrienti specifici. Quando la spora entra in contatto con il potenziale *germinant* inizia il *commitment* alla germinazione, che può continuare anche dopo la rimozione del *germinant* stesso, ma di cui ancora poco si conosce riguardo il meccanismo d'azione. Le fasi della germinazione a oggi conosciute sono relative maggiormente all'ordine Bacillales, prevalentemente studiato, e richiedono tre componenti germinazione-specifici:

- **i recettori dei germinants** (GR) collocati nella membrana interna (MI) della spora che, durante il primo stadio, riconoscono i *germinants* (L-amminoacidi specifici o D-zuccheri) e attivano l'apertura dei canali della membrana interna innescando il rilascio di cationi monovalenti (H^+ , K^+ e Na^+), di una piccola percentuale di dipicolinato di calcio (CaDPA) insieme a leggeri cambiamenti morfologici della MI che non sono ancora stati chiariti in dettaglio;
- **un canale collocato all'interno della MI**, composto da proteine Spo-VA multiple, che si apre rilasciando rapidamente CaDPA in pochi minuti e accumulando, in cambio, acqua che aumenta il contenuto idrico del *core* dal 35 al 45%;
- **gli enzimi litici del cortex** (CLE) che degradano l'abbondante strato di peptidoglicano del *cortex* portando il volume del *core* a un'espansione di circa due volte grazie al continuo assorbimento di acqua; il processo dura 10–15 minuti e aumenta ulteriormente il contenuto idrico della spora dal 45 all'80%.

Queste tre fasi (**Figura 9.3**) portano a una completa germinazione della spora con ripresa delle attività metaboliche e sintesi di nuove macromolecole, processi che danno vita alla nuova esocrescita della cellula vegetativa.

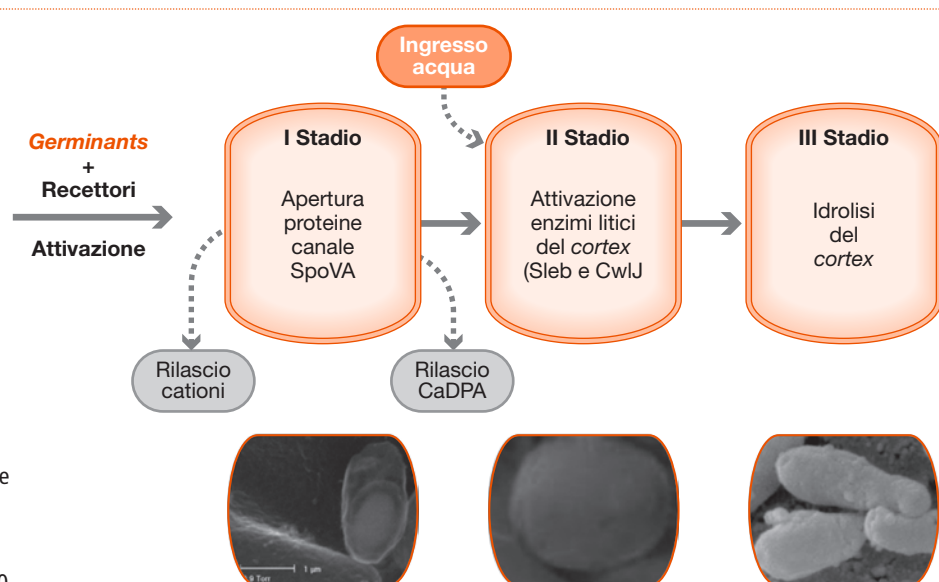


Figura 9.3 Meccanismi di trasduzione del segnale durante il processo di germinazione delle spore dei Bacillales. Adattata da Christie e Setlow, 2020.

9.4 Spore "superdormant" e rischi nel settore alimentare

Il termine *superdormant* (SD), coniato di recente, indica un sottogruppo di spore che differisce dal resto della comunità per la sua **incapacità a germinare** o, meglio, che rimane dormiente più a lungo perché richiede condizioni differenti di germinazione/esocrescita, quali per esempio la quantità di *germinants* o l'intensità di un trattamento (Figura 9.4). Più in generale, si definisce SD una popolazione di spore che non germina dopo applicazione di intensi stimoli atti a innescare la fase di germinazione. Si distinguono, per esempio, spore SD per i nutrienti, spore SD per CaDPA, spore SD per l'alta pressione dove la presenza rispettivamente di nutrienti, di dipicolinato di calcio e di alte pressioni attivano la germinazione, ma anche una sua possibile inibizione in una parte della popolazione di spore. Il principale problema di cui le spore SD sono causa è l'elusione della strategia "germinazione-inattivazione", oltre a rendere complessa una loro determinazione mediante tecniche analitiche o nell'applicazione di test di sterilità o *challenge-test*.

Le spore SD possono rimanere silenti per lunghi periodi e germinare successivamente, causando alterazioni degli alimenti o malattie di origine alimentare. Le spore SD sembrano essere anche molto più resistenti rispetto al resto della popolazione; un esempio è rappresentato da spore di *Bacillus* che, diventate SD per i nutrienti, sviluppano, in aggiunta, una maggior resistenza ai trattamenti termici. Per questi aspetti, l'incremento in resistenza dimostrato dalle spore SD rappresenta un rischio per l'industria alimentare laddove i trattamenti che normalmente inattivano la maggioranza degli sporigeni possono non essere sufficienti per le SD, portando all'inefficacia dei processi di sterilizzazione.

Il meccanismo alla base di questa germinazione eterogenea è ancora poco chiaro e non si possono delineare conclusioni certe sulla stabilità nel tempo della superdormienza; riguardo all'ipotesi generale che le spore SD non siano permanenti e perdano gradualmente nel tempo questa loro capacità, sono state fatte diverse speculazioni, tra cui la diminuzione nel numero di recettori per i *germinants*, bassi livelli di enzimi litici del *cortex* (per esempio, CwlJ) e alte temperature nella fase di sporula-

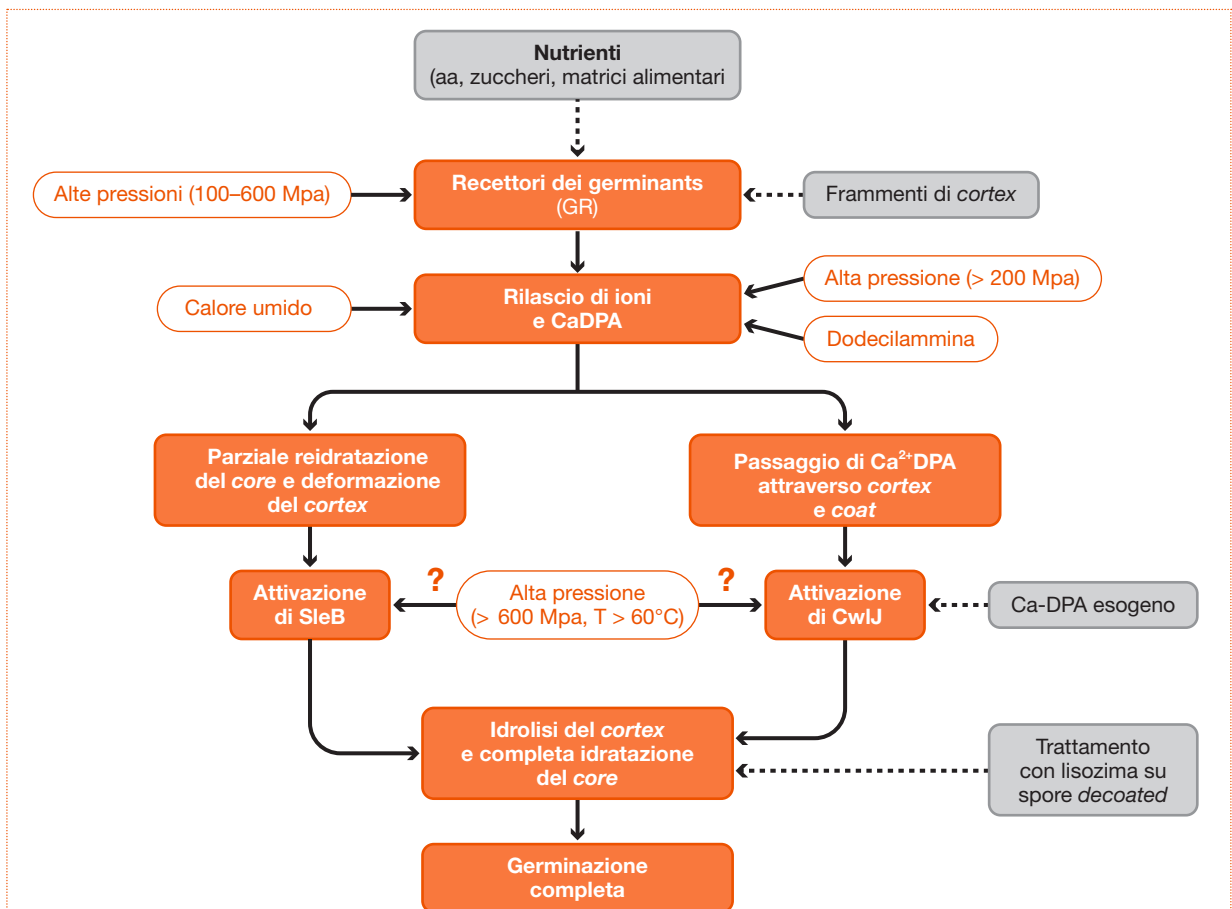


Figura 9.4 Stimoli e possibili *pathway* del processo di germinazione in spore di *Bacillus subtilis*; in grigio tratteggiato sono evidenziati gli stimoli che portano alla germinazione, mentre in rosso su fondo bianco sono mostrati gli stimoli che portano alla germinazione ma anche a una possibile inattivazione del processo con conseguente entrata in stato di superdormienza.

zione che portano a una riduzione del contenuto idrico della *core*. Per questo motivo, una maggiore comprensione dei meccanismi alla base di questo fenomeno risulta fondamentale per poter contrastare la presenza di spore SD nei prodotti alimentari, dove il comportamento relativo alla germinazione sembra essere molto diverso da quello osservato in sistemi di laboratorio.

9.5 Il metabolismo energetico dei produttori di endospore di interesse alimentare

9.5.1 *Bacillus*

Le specie del genere *Bacillus* di interesse alimentare presentano un metabolismo aerobio facoltativo, sono quindi in grado di crescere sia in condizioni aerobiche sia in assenza di ossigeno. Il metabolismo preferenziale è quello respirativo, utilizzando l'ossigeno come accettore di elettroni. Più specie di questo genere effettuano la respirazione anaerobica, riducendo i nitrati a nitriti. In assenza di accettori di elettroni, utilizzano la via fermentativa. Questi batteri sono caratterizzati da un'elevata versatilità metabolica che permette loro di utilizzare differenti fonti nutritive, come carboidrati, proteine e lipidi. È comune in questo gruppo batterico la produzione di enzimi extracellulari, come proteasi, lipasi e amilasi.

L'analisi della sequenza dei genomi di questi batteri consente un'accurata ricostruzione delle vie metaboliche e del metabolismo energetico.

9.5.2 *Clostridium*

Il genere *Clostridium sensu strictu* è ampio e suddiviso in 17 differenti *clade*, tutti caratterizzati da batteri anaerobi obbligati. Nell'ambito di questo genere sono presenti differenti vie metaboliche per la produzione di energia, a carico di zuccheri (vie metaboliche saccarolitiche con la produzione di acidi organici o alcoli), acidi organici, proteine e amminoacidi.

In questo genere è comune la produzione di idrolasi ad azione extracellulare, come proteasi, amilasi e cellulasi, che liberano dalle proteine e dai polisaccaridi peptidi, amminoacidi e zuccheri per il metabolismo energetico.

I clostridi di interesse alimentare con metabolismo saccarolitico utilizzano i monosaccaridi tramite la via glicolitica o la via dei pentoso fosfati. Il piruvato, che deriva da queste vie metaboliche, viene utilizzato in modo anaerobico, come mostrato nella **Figura 9.5**, per produrre gli acidi organici butirrato, acetato e idrogeno. Alcune specie di *Clostridium*, come *C. tyrobutyricum* o *C. cochlearium*, in assenza di zuccheri, utilizzano il lattato presente negli alimenti per produrre butirrato, acetato, CO₂ e H₂ (Figura 9.5). Il passaggio chiave delle

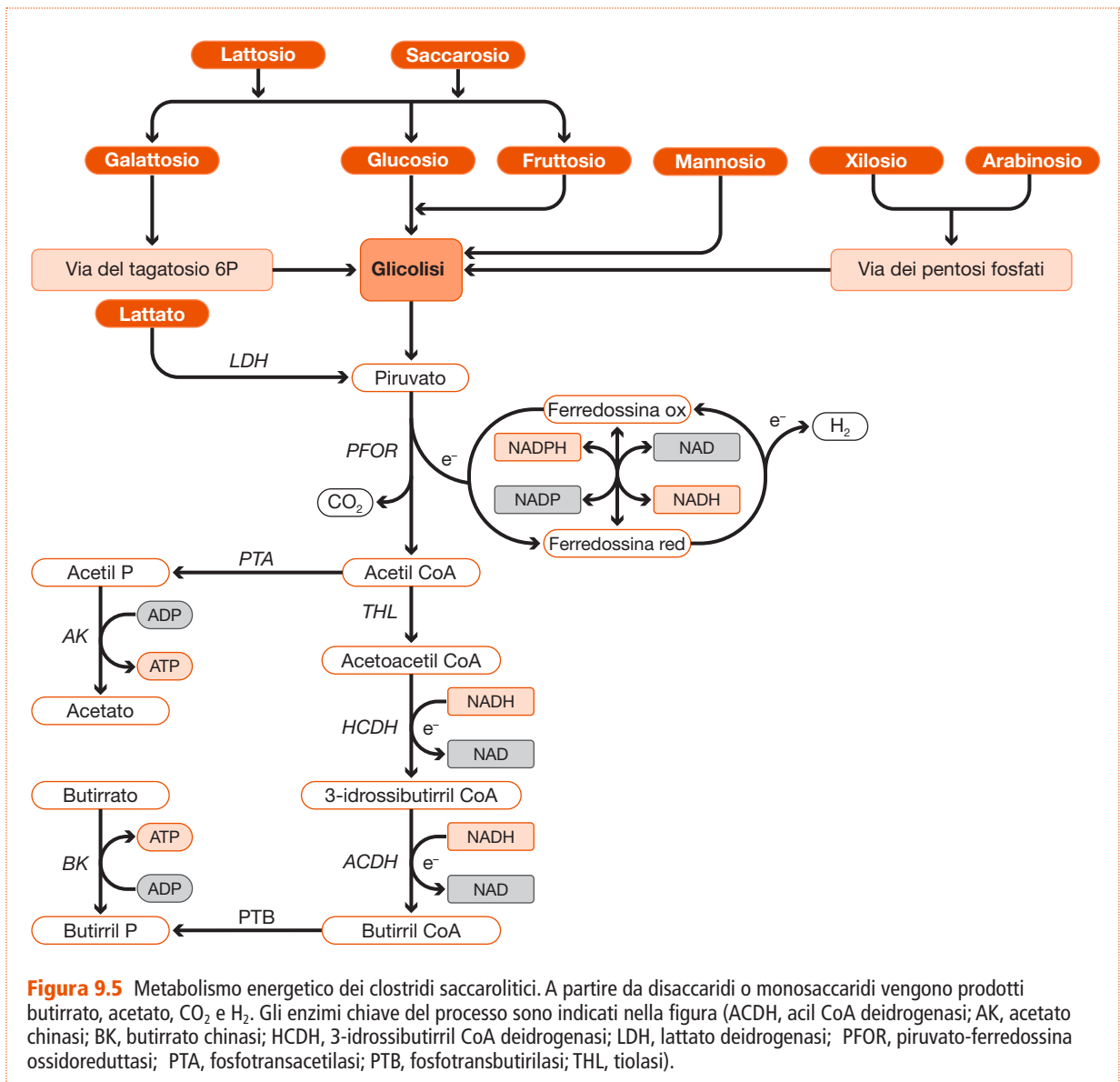
vie metaboliche a carico del piruvato nei clostridi è la sua ossidazione ad acetil CoA, con rilascio di CO₂ e riduzione della ferredossina, passaggio catalizzato dall'enzima piruvato ferredossina ossidoreduttasi. La ferredossina, una proteina contenente 4Fe-4S coinvolta nel trasferimento di elettroni, viene riossidata da idrogenasi con trasferimento di elettroni a ioni H⁺ e formazione di H₂.

I clostridi proteolitici utilizzano la **via di Stickland** (**Figura 9.6**), una via metabolica per la produzione di ATP nella quale un amminoacido funziona da donatore e un altro da accettore di elettroni. I peptidi e gli amminoacidi presenti nell'ambiente o derivati dall'azione degli enzimi proteolitici dei clostridi stessi sono importati nelle cellule grazie a sistemi di trasporto attivo specifico. I peptidi sono degradati ad amminoacidi per l'azione delle peptidasi intracellulari. Il primo passaggio della via metabolica di Stickland è la transaminazione di un amminoacido al suo chetoacido con passaggio del gruppo amminico all' α -chetoglutarato e formazione di glutammato, composto che viene successivamente deamminato dall'enzima glutammato deidrogenasi con produzione di NADH. Gli amminoacidi serina, treonina, metionina e cisteina sono direttamente deamminati da liasi.

I chetoacidi derivati da questa prima fase possono procedere per la via ossidativa o riduttiva. Nella prima sono ossidati da un chetoacido reduttasi in presenza di ferredossina con formazione dell'acil CoA e rilascio di CO₂. Nel passaggio successivo il legame tioestere è scisso con la formazione di ATP. Nel primo passaggio della fase riduttiva si forma un 2-idrossiacido grazie alla riduzione del chetoacido, con ossidazione del NADH. L'idrossiacido viene successivamente convertito in idrossiacil CoA, composto che viene deidratato nel corrispondente enoil CoA e successivamente ridotto ad acil CoA, processo catalizzato da un acil CoA deidrogenasi. Il gruppo CoA è trasferito a un idrossiacido, nel secondo passaggio della fase riduttiva con il rilascio di un acido carbossilico. I principali prodotti finali della reazione di Stickland sono riportati in **Figura 9.6**.

9.6 Sporigeni agenti di alterazioni negli alimenti

I batteri sporigeni, oltre alle specie patogene, comprendono numerosi microrganismi che sono spesso coinvolti in fenomeni alterativi degli alimenti processati. Tra questi, alcune specie del genere *Bacillus* sono coinvolte nel deterioramento dei prodotti da forno, specie del genere *Clostridium* contaminano invece prodotti carni sottovuoto, mentre a entrambi i generi appartengono specie tipicamente alterative dei prodotti caseari. Gli sporigeni alterativi maggiormente resistenti sono solitamente isolati dagli alimenti in scatola a bassa acidità, quali per



esempio *Geobacillus stearothermophilus*, *Moorella thermoacetica* e *Thermoanaerobacterium* spp.

I microrganismi sporigeni classificati come alterativi sono solitamente suddivisi in tre ordini distinti: i membri dell'ordine Bacillales, rappresentati dai generi *Bacillus*, *Geobacillus*, *Anoxybacillus*, *Alicyclobacillus* e *Paenibacillus*; i Clostridiales, con i generi *Clostridium* e *Desulfotomaculum*; i Thermoanaerobacterales, come ordine di più recente introduzione. La classificazione degli sporigeni alterativi è in continua evoluzione e nuovi approcci molecolari saranno necessari in futuro per meglio caratterizzare la diversità di questi microrganismi spesso difficili da coltivare.

Il deterioramento prodotto dagli sporigeni è dovuto in gran parte dei casi ai fenomeni di germinazione ed escrescita delle spore precedentemente dormienti che

possono danneggiare la stabilità dei prodotti trattati termicamente. I difetti prodotti si manifestano spesso come cambiamenti della consistenza, dell'odore, variazioni di pH e produzione di gas, con differenze che dipendono dalla matrice alimentare (di origine animale o vegetale) e dalla specie microbica.

9.6.1 Prodotti da forno

Le alterazioni dei prodotti da forno sono spesso associate ad appartenenti del genere *Bacillus* spp. (*B. pumilus*, *B. subtilis*, *B. licheniformis*, *B. clausii*, *Paenibacillus*) presenti nelle materie prime che generano come principali difetti, in seguito a germinazione delle spore innescata dalla cottura, una decolorazione della crosta, una mollica filante (*ropy spoilage*) e *off-flavours* fruttati.

13

CAPITOLO

Le malattie a trasmissione alimentare

In sintesi

Le malattie a trasmissione alimentare sono causate dall'ingestione di alimenti o acqua contaminati da agenti patogeni per l'uomo (batteri, virus, funghi, parassiti), loro metaboliti o da sostanze chimiche come metalli pesanti. Secondo l'Organizzazione Mondiale della Sanità (OMS), circa 200 malattie sono trasmesse per via alimentare e, in tutto il mondo, il 10% delle persone si ammala a causa di consumo di alimenti contaminati ogni anno. Pertanto, le malattie a trasmissione alimentare sono un problema rilevante per la salute pubblica con conseguenze socioeconomiche: sollecitazione dei sistemi di assistenza sanitaria, perdita di produttività, impatto sul turismo e commercio. Questo e i prossimi due capitoli saranno focalizzati sugli agenti biologici (e/o loro metaboliti) che causano malattie a trasmissione alimentare.

13.1 La manifestazione delle malattie a trasmissione alimentare

L'ingestione di un alimento contaminato può provocare la manifestazione di sintomi clinici nell'uomo. Il tempo che trascorre dall'ingestione all'insorgenza dei primi sintomi è chiamato **tempo di incubazione** e varia a seconda della malattia. I sintomi possono manifestarsi in tempi brevi (ore o qualche giorno) o medio-lunghi (diversi giorni o mesi) dopo l'ingestione e si parla di **malattia acuta**. In alcuni casi i sintomi si manifestano dopo tempi lunghi (anni) e in questo caso si potrebbe osservare anche un effetto cumulativo, dovuto a ripetute esposizioni all'agente patogeno; la malattia tende a divenire cronica. Le malattie croniche sono meno frequenti rispetto alle malattie acute. Inoltre, per le malattie croniche non è sempre facile eseguire uno studio epidemiologico per determinare l'agente e le condizioni che hanno portato all'insorgenza. Infine, le malattie a trasmissione alimentare, in circostanze rare, possono avere delle sequele croniche che compromettono la salute dei pazienti. In questi casi, l'agente patogeno innesca meccanismi non sempre chiari che portano a sintomi spesso collegati a risposta impropria (eccessiva) del sistema immunitario dell'uomo.

I sintomi clinici più comuni di una **malattia a trasmissione alimentare (MTA)** sono legati al sistema gastrointestinale; diarrea accompagnata da nausea e crampi addominali sono spesso codificati come gastroenterite. Diarrea sanguinolenta (dissenteria) e vomito sono altri sintomi spesso dovuti all'ingestione di un alimento contaminato. Sintomi più severi coinvolgono altri organi o sistemi, come il fegato, i reni, il sistema nervoso centrale, e possono portare al decesso. La manifestazione e la severità dei sintomi non sono le stesse per tutti gli individui che ingeriscono un alimento contaminato. In particolare, alcuni gruppi della popolazione sono generalmente più suscettibili a malattie a trasmissione alimentare. Donne in stato di gravidanza, anziani, bambini e soggetti immunodepressi sono le categorie maggiormente a rischio di contrarre una malattia a trasmissione alimentare con sintomi accentuati rispetto al resto della popolazione.

13.2 Infezione e intossicazione

Le malattie a trasmissione alimentare sono suddivise in infezioni e intossicazioni. Le **infezioni** sono causate dall'ingestione di microrganismi vivi al momento del consumo che possono crescere e colonizzare l'intestino e/o invadere altri tessuti. La quantità di cellule minima ingerita che causa sintomi è definita **dose infettiva**.

Tabella 13.1 Comparazione degli approcci preventivi di infezione e intossicazione alimentare. Per le due tipologie sono riportati gli approcci in ordine di priorità/efficacia nella prevenzione.

Infezione alimentare	Intossicazione alimentare
"Ingestione di cellule vive di un microrganismo"	"Ingestione di tossina prodotta da un microrganismo nell'alimento"
Prevenire la contaminazione dell'alimento dal microrganismo patogeno	Prevenire la crescita e/o la produzione della tossina nell'alimento
Eliminare il microrganismo patogeno prima del consumo dell'alimento	Eliminare il microrganismo prima della produzione della tossina
Limitare la crescita del microrganismo patogeno	Prevenire la contaminazione dell'alimento dal microrganismo patogeno

I sintomi possono essere correlati alla produzione di tossina/e sintetizzata/e dal microrganismo all'interno del corpo umano o all'estesa proliferazione cellulare che può compromettere la funzione di tessuti o organi. Le **intossicazioni** sono causate dall'ingestione di una tossina presente nell'alimento e sintetizzata da un microrganismo durante la sua proliferazione. Quindi per le infezioni è necessaria la sola presenza nell'alimento di cellule, in alcuni casi anche poche, di un microrganismo patogeno al momento del consumo; nelle intossicazioni, invece, il microrganismo patogeno presente nell'alimento ha avuto l'opportunità di proliferare e produrre una tossina prima del consumo (tossina preformata). Questa differenza sostanziale tra infezione e intossicazione indica anche approcci diversi nella prevenzione della malattia. Per prevenire un'infezione è importante evitare la contaminazione dell'alimento e, se questo non è possibile, eliminare, tramite opportuni interventi tecnologici, il microrganismo prima del consumo. Nel caso delle intossicazioni bisogna prevenire la crescita del microrganismo patogeno in tutte le fasi di produzione e conservazione fino al consumo. Come approccio secondario nella prevenzione delle intossicazioni è possibile eliminare il microrganismo patogeno, ma questo dovrebbe avvenire prima della produzione della tossina. La tossina già formata in un alimento non sempre può essere eliminata o distrutta durante fasi successive della produzione o conservazione; pertanto, è preferibile prevenire la sintesi da parte dei microrganismi produttori (Tabella 13.1).

Manipolando i parametri intrinseci ed estrinseci che influenzano la crescita e sopravvivenza dei microrganismi durante il processo produttivo è possibile prevenire infezioni e intossicazioni (Capitolo 5).

13.3 La contaminazione degli alimenti da parte di microrganismi patogeni

I microrganismi patogeni possono contaminare gli alimenti attraverso diverse vie e in svariati punti del processo produttivo. Le materie prime di origine animale possono essere contaminate da **agenti zoonotici**, cioè

agenti che causano zoonosi, malattie trasmesse da animali vertebrati all'uomo. Esempi di agenti zoonotici trasmessi per via alimentare sono i batteri *Salmonella enterica*, *Campylobacter* spp. ed *Escherichia coli* O157:H7 e il protozoo *Toxoplasma*. Le materie prime di origine vegetale possono essere contaminate da microrganismi naturalmente associati al suolo (*Bacillus cereus*, *Clostridium botulinum*) o da contaminanti delle acque di irrigazione (agenti zoonotici). Durante tutte le fasi successive della filiera alimentare e in base alle condizioni che si verificheranno, i microrganismi possono crescere oppure essere eliminati. Inoltre, si verificano nuove occasioni di contaminazione da parte di microrganismi ubiquitari, associati agli ambienti di produzione (per esempio quelli in grado di formare biofilm all'interno degli impianti (Capitolo 3) o trasmessi per via oro-fecale a causa di cattive regole di igiene da parte degli operatori del settore alimentare.

13.4 La resistenza a sostanze antimicrobiche

Gli antibiotici sono sostanze di origine microbica impiegate nella cura di malattie infettive nell'uomo e negli animali. Mentre il trattamento sull'uomo è circoscritto a terapie momentanee, gli antibiotici sono stati ampiamente utilizzati sia nell'allevamento sia nell'acquacoltura. Lo scopo di questo uso esteso non è la cura di malattie infettive ma la promozione della crescita. Questa esposizione continua ha contribuito alla comparsa di **batteri antibiotico-resistenti**, ormai diffusi al punto da costituire un serio pericolo per la salute pubblica. Nel tentativo di ridurre l'incidenza, l'Unione Europea ha vietato il loro uso come promotori di crescita e ha stabilito programmi di sorveglianza per monitorare un fenomeno così rilevante entro i Paesi membri.

La sintesi di enzimi per degradare o modificare la struttura del principio attivo, la riduzione della permeabilità della cellula batterica nei suoi confronti, l'attivazione di opportune pompe per ridurre i livelli tossici o il cambiamento dei siti target verso cui avrebbe dovuto essere attivo, sono i principali meccanismi che consentono ai microrganismi di sviluppare antibiotico-resistenza.

L'uso inappropriato degli antibiotici esercita una pressione selettiva sui microrganismi e contribuisce allo sviluppo di resistenza. Lo sviluppo di resistenza agli antibiotici può essere dovuto a mutazioni spontanee ma più frequentemente è collegato a elementi genetici mobili che possono essere scambiati tra microrganismi attraverso trasferimento genico orizzontale. In ambienti caratterizzati da comunità microbiche complesse, come l'intestino umano e di animali, l'ambiente associato alla coltivazione o all'allevamento di animali e gli alimenti stessi, il fenomeno del trasferimento orizzontale contribuiscono alla diffusione dei geni che apportano resistenza agli antimicrobici. Nei microrganismi patogeni per l'uomo, trasmessi con gli alimenti, si osserva negli ultimi anni un aumento preoccupante di ceppi resistenti a uno o più antibiotici fra quelli attualmente utilizzati per la cura di malattie infettive. È necessario invertire questa tendenza al fine di evitare il rischio che agenti infettivi non possano in futuro essere contrastati con l'uso degli antibiotici attualmente disponibili a causa della resistenza acquisita.

13.5 Epidemiologia delle malattie a trasmissione alimentare

L'epidemiologia è lo studio delle malattie all'interno di una popolazione e dei fattori che determinano la loro occorrenza nel corso del tempo. Attraverso la raccolta di dati epidemiologici è possibile calcolare l'incidenza (numero di casi in una popolazione per un determinato periodo di tempo) delle malattie a trasmissione alimentare sulla popolazione e valutare la loro importanza per la salute pubblica.

Una malattia a trasmissione alimentare può verificarsi come **caso sporadico** oppure come focolaio di malattia. Il caso sporadico è definito come un caso che non può essere collegato dal punto di vista epidemiologico con altri della stessa malattia. Il **focolaio** si riferisce a due o più casi della stessa malattia attribuibili all'ingestione dello stesso alimento (Figura 13.1). In situazioni di numeri elevati di casi, anche distribuiti in un'area geografica estesa, si usa il termine **epidemia**. L'investigazione

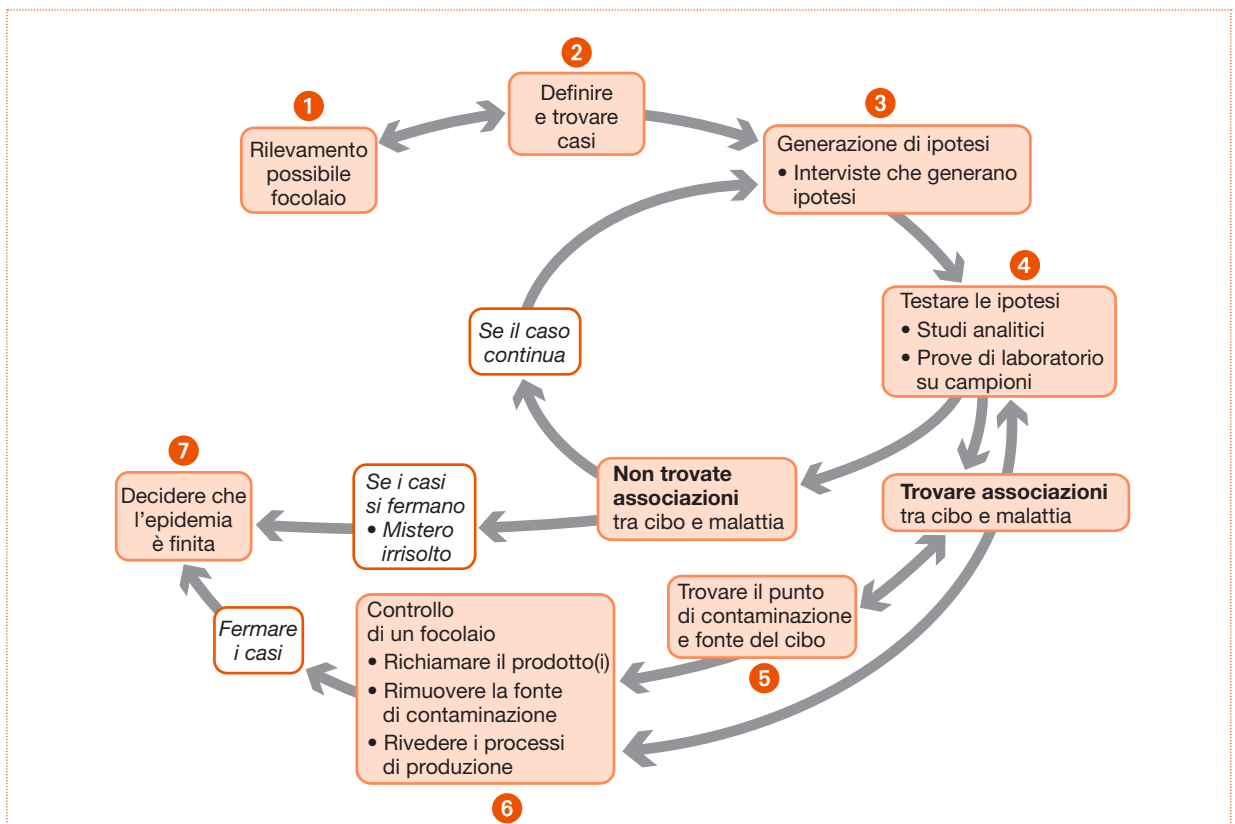


Figura 13.1 Investigazione di un focolaio a trasmissione alimentare. Quando si sospetta che un focolaio si stia evolvendo (1), è possibile identificare nuovi casi (2), effettuare interviste utilizzando appositi questionari per raccogliere informazioni riguardo all'episodio e generare una o più ipotesi (3). In base all'ipotesi sono effettuate delle analisi su campioni di alimenti, di ambienti di produzione, clinici per confermarla (4). Quando è possibile individuare un'associazione tra alimento e malattia, risalire all'evento che ha portato alla contaminazione (5) e controllare il focolaio (6), si richiama il prodotto dal mercato e si elimina la fonte di contaminazione, rivisitando il processo produttivo per prevenire futuri focolai. Il focolaio è considerato finito se non si verificano nuovi casi; se non è possibile individuare un'associazione tra alimento e malattie e i casi continuano, si procede con nuove ipotesi (3) e test analitici (4).

epidemiologica delle malattie a trasmissione alimentare permette l'identificazione di casi che possono essere collegati (focolaio), l'individuazione dell'alimento che ha causato la malattia e il contenimento del focolaio all'interno di una popolazione.

Inoltre, studiando in maniera retrospettiva i focolai, è possibile precisare i fattori determinanti del loro sviluppo per prevenirli ed evitarli in futuro. Nell'ambito dello studio epidemiologico delle malattie a trasmissione alimentare sono rilevanti i sistemi di sorveglianza. I **sistemi di sorveglianza** hanno lo scopo di raccogliere in maniera sistematica dati di insorgenza di malattie a trasmissione alimentare, analizzarli e interpretarli per definire le priorità di azioni volte a proteggere la salute pubblica. Lo studio epidemiologico può, infine, permettere l'individuazione di malattie emergenti che sono definite come malattie per le quali si osserva un aumento di incidenza negli ultimi decenni. I microrganismi responsabili sono definiti **patogeni emergenti**. Eventi che possono provocare l'emersione di nuove malattie sono:

- lo sviluppo di nuovi metodi, tecnologie o procedure nella produzione e manipolazione degli alimenti. In questo caso si possono verificare nuove condizio-

ni più favorevoli alla sopravvivenza o alla crescita di microrganismi patogeni (es. *Listeria monocytogenes*);

- lo sviluppo di varianti patogene di microrganismi che sono il risultato dell'evoluzione microbica o di trasferimento genico orizzontale in combinazione con l'emergere di popolazioni suscettibili alle malattie nella società (es. *Escherichia coli* patogeni).

In alcuni casi lo sviluppo di nuove tecniche di analisi per la determinazione microbica negli alimenti può favorire una visione più completa dei microrganismi presenti, inclusi quelli patogeni per l'uomo, ed evidenziare microrganismi che non erano stati evidenziati con le metodiche precedenti (es. *Campylobacter*). In questo caso non si tratterebbe di emersione di nuovi pericoli ma di capacità di riconoscere pericoli già precedentemente presenti ma non riconoscibili a livello analitico.

BIBLIOGRAFIA

Foodborne disease outbreaks: guidelines for investigation and control.
World Health Organization, 2008.

www.cdc.gov/foodsafety/

www.who.int/health-topics/food-safety/

Microbiologia delle uova e degli ovoprodotti

In sintesi

L'uovo costituisce uno degli alimenti di origine animale più completi dal punto di vista nutrizionale e più diffusi nelle diete di tutto il mondo, grazie alla sua versatilità d'impiego in diverse formulazioni e al suo basso costo. La valutazione della sicurezza e della qualità di questo prodotto è fondamentale a causa della sua intrinseca deperibilità e dell'elevata probabilità di contaminazione lungo la filiera produttiva e distributiva. In questo capitolo vengono affrontati e approfonditi gli aspetti igienici relativi alla produzione e trasformazione dell'uovo e dei suoi derivati, nonché alcune informazioni relative alla normativa che ne regola il settore.

22.1 Specie avicole e razze ovaiole

Il settore dei prodotti avicoli comprende aziende che si occupano dell'allevamento e produzione di animali da carne e di animali da uova. La gallina (*Gallus gallus domesticus*) comprende diverse razze, ciascuna delle quali ha caratteristiche diverse, sia dal punto di vista morfologico sia per quanto riguarda la produttività. Per quanto concerne la produzione di uova per il consumo umano, la filiera di produzione comprende l'animale, la tipologia di allevamento, l'alimentazione, la raccolta, lo stoccaggio e la conservazione delle uova. Oltre le uova di gallina, in commercio si possono trovare anche quelle di altre specie avicole (quaglia, anatra, oca, struzzo) il cui consumo e vendita occupano un piccolo segmento di mercato e sono considerate un prodotto "di lusso".

Le uova vengono commercializzate in guscio oppure sottoforma di derivati (uova liquide pastorizzate, congelate, in polvere). Le galline ovaiole depongono in media quasi un uovo al giorno, per un totale di circa 250–300 uova all'anno a seconda della razza e delle condizioni ambientali. In inverno e in estate si assiste a un calo della produzione, a causa delle temperature ambientali o troppo basse o troppo alte. La selezione genetica è realizzata in base a diversi criteri quali numero di uova prodotte, colore del guscio, idoneità della progenie per il tipo di produzione, forza delle ossa e resistenza a determinate malattie.

Tra le razze migliori per quanto riguarda la produttività, possiamo citare la Padovana, la Livornese, la Ancona, la Siciliana, la Marans, l'Australorp, la Barnevelder e l'ibrido commerciale Isa Brown.

22.1.1 Tipi di allevamento

Le tipologie di allevamento si classificano come:

- **in gabbia**, modificata o arricchita;
- **a terra**;
- **all'aperto**;
- **biologico**.

Con il DLgs 267 del 29 luglio 2003 (Attuazione delle Direttive CE 1999/74 e 2002/4 per la protezione delle galline ovaiole e la registrazione dei relativi stabilimenti di allevamento) l'allevamento in batteria è stato vietato in tutta Europa per le galline ovaiole ed è praticamente quasi stato abbandonato anche per gli animali da carne.

Le tipologie di allevamento diverse dalla gabbia sono definiti **systemi alternativi**. Ogni sistema presenta vantaggi e svantaggi diversi in termini di benessere degli animali e rischio biologico.

Nell'**allevamento in gabbia** (modificata o arricchita) ogni gallina ovaiole deve disporre di almeno 750 cm² di superficie, con vaschette per l'acqua e il mangime. La temperatura è controllata, la luce è artificiale e spesso viene tenuta accesa per accrescere la produttività.

Nell'**allevamento a terra** le galline hanno a disposizione una superficie coperta (capannoni) in cui la densità deve corrispondere a un massimo di 6 individui/m² di suolo. La lettiera è costituita da trucioli di legno e pula di grano; mangimi e acqua vengono resi disponibili in vaschette come per l'allevamento in gabbia. Anche in questo caso le condizioni ambientali di temperatura e illuminazione sono controllate.

Nell'**allevamento all'aperto** le galline hanno la libertà di spostarsi da uno spazio aperto dove razzolare (max 2500 polli per ettaro di superficie) a un ricovero con mangiatoie e abbeveratoi, con le stesse caratteristiche dell'allevamento a terra. In questo caso le condizioni ambientali sono principalmente quelle esterne e la produzione di uova da parte dell'animale è minore.

L'**allevamento biologico** è simile a quello all'aperto e si differenzia da quest'ultimo per l'utilizzo di mangimi (principalmente mais e altri cereali) di esclusiva provenienza biologica controllata. Gli stessi pulcini devono provenire da allevamenti biologici.

Gli allevamenti di tipo alternativo presentano numerosi vantaggi per il benessere dell'animale ma alcuni svantaggi, tra cui l'incostante e minore produttività (soprattutto per allevamenti all'aperto e biologici) e l'aumento di presenza di uova rotte, incrinata e sporche.

22.2 Formazione, struttura e composizione dell'uovo

22.2.1 Formazione

Grazie alla selezione operata dall'uomo, le galline delle razze ovaiole sono in grado di produrre uova senza accoppiamento con il maschio; queste uova non sono, dunque, fertili.

L'uovo si forma all'interno dell'apparato riproduttore della gallina costituito dall'**ovario**, sede di formazione del tuorlo, e dall'**ovidotto**, sede di formazione dell'albume e del guscio. Sotto il controllo del sistema endocrino dell'animale, il singolo uovo (ovocita) si separa dal tessuto germinativo dell'ovaio, matura progressivamente, si accresce in volume per sintesi di materiale nutritivo (tuorlo), viene espulso dal follicolo e convogliato verso l'ovidotto (ovulazione). Quest'ultimo è un tubo della lunghezza di circa 70 cm posizionato tra l'ovario e la cloaca, nel quale la cellula uovo, costituita dal disco germinativo e dal tuorlo e racchiusa dalla membrana vitellina, viene rivestita da strati successivi di sostanze e materiali sintetizzati da tessuti e ghiandole specializzati. Nel primo tratto dell'ovidotto (**magnum**) è secreto l'albume e sono formate alcune strutture membranose, dette calaze; di seguito, nell'**istmo** sono realizzate le membrane testacee e successivamente nell'**utero** avviene la formazione del guscio per deposizione successiva di

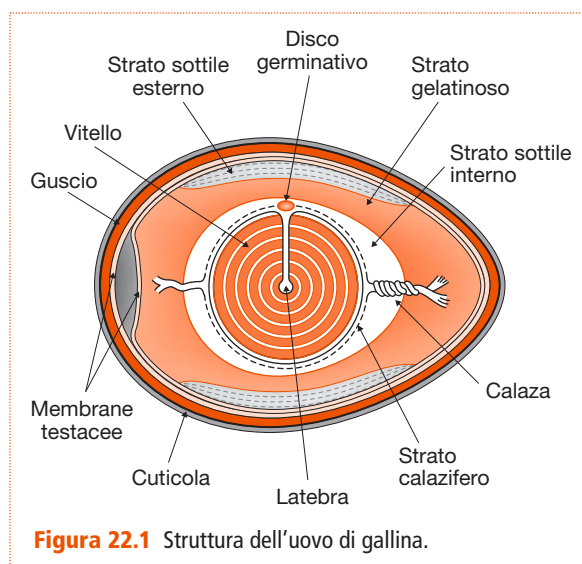


Figura 22.1 Struttura dell'uovo di gallina.

strati di carbonato di calcio, un processo che dura circa 20 ore. Durante il passaggio dalla **vagina**, ultimo tratto dell'ovidotto, il guscio è rivestito da una cuticola. Infine, l'uovo completo discende nella **cloaca** e viene deposto attraverso l'orifizio anale.

22.2.2 Struttura e composizione

A partire dall'esterno verso l'interno sono distinguibili, come mostrato nella **Figura 22.1**:

- il guscio;
- l'albume (chiara o bianco dell'uovo);
- il tuorlo (rosso dell'uovo).

Il guscio dell'uovo appena deposto è ricoperto da una sottile cuticola di natura glicoproteica, detta **mucina** (spessore 10–20 µm), che costituisce la prima barriera di protezione da contaminazioni esterne di tipo chimico e microbiologico. Tale pellicola dona al guscio dell'uovo fresco un aspetto vellutato; infatti, le uova sottoposte a lavaggio o le uova vecchie presentano un guscio di aspetto lucido poiché la mucina è stata rimossa o si è degradata.

Il **guscio** propriamente detto è la struttura fisica di natura calcarea che dona forma all'uovo ed esercita la funzione di protezione meccanica (spessore circa 350 µm). Il colore, determinato da fattori genetici, dipende dalla razza della gallina. Il guscio è costituito per oltre 97% da cristalli di carbonato di calcio e per la restante parte da proteine simili al collagene. Si suddivide in uno strato più esterno, detto **spongiosa**, esteso per 2/3 dello spessore e ricco di pori che permettono il passaggio dei gas, e uno strato più interno, detto **mamillare**, esteso per 1/3 dello spessore, con cristalli di calcite molto fini. Al suo interno il guscio è rivestito da due lamine di natura proteica: la **membrana testacea esterna** (spessore circa

50 μm) e la **membrana testacea interna** (spessore circa 25 μm). Esse sono aderenti tra loro ma si distaccano in corrispondenza del polo ottuso dell'uovo per formare la **camera d'aria**. Con il trascorrere del tempo il volume della camera d'aria aumenta come conseguenza degli scambi gassosi; la dimensione della sua altezza dall'apice del polo è utilizzata come criterio per valutare lo stato di freschezza dell'uovo.

Costituito prevalentemente da acqua e proteine, l'**albume** ha una struttura gelatinosa e riveste un ruolo protettivo e di riserva di acqua per il potenziale nuovo individuo. All'interno dell'albume si distinguono due strutture fibrose, dette **calaze**, che si dipartono dalla membrana testacea interna, secondo l'asse maggiore, verso lo strato calazifero che avvolge la membrana vitellina del tuorlo, tenendo quest'ultimo allineato e sospeso tra i due poli. Lo strato calazifero e lo strato gelatinoso presentano un aspetto denso poiché ricchi di **ovomucina**, mentre le altre parti di albume hanno una consistenza liquida.

Il **tuorlo** è la vera e propria cellula uovo che racchiude il disco germinativo e il vitello, dove sono accumulate le riserve nutritive per il potenziale sviluppo dell'embrione. Partendo dall'esterno si distingue:

- la **membrana vitellina**, una struttura di natura proteica, con spessore circa 100 μm , che avvolge completamente il tuorlo;
- il **disco germinativo**, costituito dal citoplasma e dal nucleo femminile in degenerazione;
- il **vitello**, che rappresenta la componente maggiore; ricco in grassi e proteine.

Se l'uovo fosse fecondato il disco germinativo si evolverebbe in **discoblastula** o **blastoderma**, formato da migliaia di cellule derivanti dalle successive duplicazioni dello zigote. Il vitello è composto da una parte a colorazione più intensa (vitello giallo) organizzato in sfere concentriche e da una parte di colorazione chiara (vitello bianco) che si estende dal disco germinativo verso il centro della cellula, detta **latèbra**. L'intensità del colore del tuorlo dipende dalla ricchezza in xantofille della dieta assunta dall'animale.

Nella **Tabella 22.1** è riportata la composizione percentuale in peso delle diverse parti dell'uovo di gallina. La variabilità maggiore nei valori riscontrati nel tuorlo è dovuta alla possibilità di scambio di acqua con l'albume e all'età dell'uovo in cui si realizza il campionamento.

22.2.3 Meccanismi naturali di difesa dell'uovo

I fattori che proteggono l'uovo dalla contaminazione microbica sono diversi, fisici e biochimici. La **resistenza fisica** alla contaminazione batterica è fornita dalla cuticola, dal guscio e dalle membrane testacee.

La cuticola è uno strato proteico idrofobico che ricopre l'esterno dell'uovo, aggiungendo spessore al guscio ne aumenta la resistenza e, sebbene sia permeabile ai gas, impedisce il flusso di acqua, batteri o altri materiali attraverso i pori. L'integrità di questo strato diminuisce naturalmente con il tempo e con la conservazione a temperature elevate; inoltre, l'adozione di pratiche quali il lavaggio o il trattamento con abrasivi ne compromette la funzione protettiva. Una piccola percentuale di uova può essere deposta senza cuticola.

La corretta gestione della pulizia del guscio prevede una spazzolatura a secco e, quando consentito, il lavaggio. Nonostante la presenza di pori, il secondo elemento che svolge un ruolo di difesa meccanica è il guscio, soprattutto nello strato più interno; la formazione di condensa e la presenza di fratture facilitano la penetrazione dei batteri.

Il terzo livello di ostacolo all'ingresso dei microrganismi è esercitato dalle membrane testacee, situate sulla superficie interna del guscio. Sebbene possano essere degradate da attività proteolitiche di origine microbica, esse costituiscono il fattore fisico protettivo più importante.

Da un punto di vista **biochimico** sono presenti nell'albume diverse sostanze di natura proteica con effetti avversi nei confronti dei microrganismi. La principale è il **lisozima**, una muramidasi in grado di degradare la parete batterica, soprattutto dei Gram positivi, catalizzando l'idrolisi del legame glicosidico tra l'acido *N*-acetilmuramico e la *N*-acetilglucosamina che sono le componenti principale del peptidoglicano. Tale enzima, presente nel bianco dell'uovo in concentrazioni fino a 0,4%, viene estratto proprio da questa matrice come additivo per usi alimentari.

La **conalbumina** od **ovotransferrina** è un ulteriore composto antimicrobico, presente nell'albume in quantità di 1,2–1,4%. Avendo la capacità di legare tenacemente gli ioni ferro, ne riduce il livello disponibile a possibili batteri invasivi.

L'**ovomucoide** è una proteina presente in concentrazione di 1,0–1,1% con funzione inibente la tripsina; si pone, dunque, come elemento di contrasto alla predazione di uova crude da parte di animali superiori come mammiferi, uccelli e rettili.

Tabella 22.1 Composizione percentuale delle parti costituenti l'uovo di gallina.

Componenti	Guscio (g/100 g)	Albume (g/100 g)	Tuorlo (g/100 g)
Acqua	1,0	87,7–88,5	47,5–53,0
Proteine	2,0–3,0	10,5–11,0	15,5–17,4
Carboidrati	-	0,5–0,8	0,2–1,0
Lipidi	-	-	26,7–33,0
Sali minerali	96,0–97,0	0,4–0,5	1,1–1,7

Sempre nell'albume, è presente l'**avidina** in quantità 0,05%, una glicoproteina chelante specificamente la biotina (vitamina H); ne riduce la disponibilità a microrganismi eventualmente penetranti.

Conalbumina, ovomucoide e avidina sono proteine termolabili, quindi le loro funzioni sono inattivate dalla cottura del prodotto.

Infine, il valore naturalmente alto del pH dell'albume che passa da circa 7,8 al momento della deposizione fino a 9,4 nell'uovo conservato, aiuta ulteriormente a limitare lo sviluppo microbico. Il pH del bianco dell'uovo dipende dall'equilibrio tra la CO₂ disciolta, gli ioni bicarbonato e carbonato, i gruppi funzionali liberi nelle proteine; questa variazione è in parte attribuibile alla perdita di anidride carbonica durante la conservazione.

22.3 Il microbiota del guscio

22.3.1 Fattori che condizionano l'accesso dei microrganismi

Come già riportato, le uova presentano diversi elementi protettivi per difendersi dalle aggressioni esterne. Il guscio, che offre primariamente una barriera fisica all'ingresso di microrganismi, non è sterile e la sua superficie può essere contaminata all'interno del sistema riproduttivo della gallina dopo la sua formazione (trasmissione orizzontale) e immediatamente dopo la deposizione dell'uovo, da materiale fecale e ambiente di produzione (incubatoio, nido, mangimi, aria, attrezzature) nonché durante il trasporto lungo la filiera. Proteine con funzione antibatterica, quali lisozima e ovotransferrina, sono state riscontrate, oltre che nell'albume, anche nel guscio e nelle membrane testacee.

Nonostante la protezione fisica e chimica, esiste la possibilità di ingresso di vari batteri all'interno dell'uovo. Il primo fattore che influenza la penetrazione dei microrganismi è, ovviamente, l'integrità del guscio stesso (assenza di crepe). Anche in caso di guscio integro, i batteri possono trovare la via per entrare all'interno; questa eventualità è alta nei primi minuti dopo la deposizione. Infatti, in questa fase la cuticola dell'uovo è immatura e alcuni pori potrebbero essere aperti. Inoltre, nell'uovo appena deposto il guscio è bagnato e presenta la stessa temperatura corporea della gallina (42 °C); dato che l'ambiente di deposizione si trova a temperature più basse questo può comportare lo sviluppo di una pressione negativa all'interno dell'uovo, favorendo la migrazione dei microrganismi attraverso il guscio e le membrane.

Il contatto con materiale fecale, lettiera, segatura, nonché la cattiva manipolazione e la presenza di difetti nel guscio aumentano il rischio di contaminazione. Altri fattori quali l'età dell'animale, le carenze nutrizionali o alcune infezioni virali possono aumentare la permeabi-

lità del guscio d'uovo ai microrganismi. Anche la modalità di conservazione (temperatura, umidità) diventa un fattore importante nel diminuire il rischio.

22.3.2 La contaminazione microbica del guscio

Il livello di contaminazione del guscio condiziona la *shelf-life* e la sicurezza alimentare dell'uovo. La carica microbica riscontrata sul guscio varia da 10² a 10⁷ ufc/uovo ed è costituita prevalentemente da batteri Gram positivi, probabilmente a causa della loro tolleranza a condizioni di bassa *a_w*. Tra i generi più comuni si riscontrano *Aerococcus*, *Bacillus*, *Micrococcus*, *Staphylococcus* e *Streptococcus*. Tra i Gram negativi troviamo invece *Alcaligenes*, *Escherichia*, *Pseudomonas* e *Salmonella* che, sebbene presenti in minore quantità sul guscio, sono in grado di sopravvivere meglio alle naturali difese fisiche e biochimiche dell'uovo. La capacità di penetrare nel guscio è ceppo-dipendente e favorita dalla motilità del microrganismo. Inoltre, maggiore è la contaminazione del guscio, maggiore sarà la probabilità di penetrazione.

Anche la stagionalità ha un'influenza: in inverno la carica microbica presente sul guscio è più bassa.

Le uova che presentano una contaminazione sul guscio costituiscono un rischio lungo la filiera di lavorazione poiché, oltre a favorire il passaggio dei microrganismi verso l'interno, potrebbero contaminare anche altri alimenti. Da qui la necessità di rimuovere rapidamente qualsiasi residuo di materiale fecale. Nell'Unione Europea è vietato il lavaggio delle uova da tavola di categoria A (pratica regolarmente adottata in Paesi come Stati Uniti, Canada, Giappone e Australia) per ridurre la contaminazione del guscio, come descritto nel paragrafo 22.4.1.

Salmonella costituisce il problema maggiore dal punto di vista della sicurezza, causando quasi il 90% delle malattie di origine alimentare che derivano dal consumo di uova e derivati. La loro presenza sul guscio è prevalentemente originata da una trasmissione verticale ed esiste una proporzionalità quadratica tra la prevalenza dell'infezione nelle galline ovaiole e il tasso di contaminazione del contenuto delle uova. Tuttavia, poiché *Salmonella* può originare anche da una contaminazione orizzontale, è difficile distinguere tra una contaminazione dell'uovo che si verifica durante la sua formazione e quella che si verifica dopo la deposizione. La sopravvivenza di questo microrganismo sul guscio si verifica anche in assenza di materiale fecale, a basse temperature e bassi valori di umidità relativa. In Europa, *Salmonella* Enteritidis è il sierotipo più comunemente riscontrato in questo prodotto, mentre nelle galline il sierotipo prevalente è *Salmonella* Typhimurium. Lunghi tempi di conservazione e temperature elevate favoriscono un indebolimento del guscio e la perdita dell'integrità delle membrane favorendo l'attraversamento dell'albume da parte di questo batterio patogeno.

Oltre a *Salmonella*, sono stati ritrovati sulla superficie esterna dell'uovo anche altri microrganismi pericolosi, quali *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes* e *Campylobacter*. Generalmente, tutti questi presentano valori di contaminazione molto bassi, così come limitata sembra la loro capacità di penetrare all'interno dell'uovo.

22.4 La normativa sulla produzione e sulla vendita delle uova

22.4.1 La classificazione delle uova

Il reg. CE 1028/2006 del Consiglio del 19 giugno 2006 definisce **uova** le uova in guscio, escluse le uova rotte, incubate o cotte, prodotte da galline della specie *Gallus gallus domesticus* e adatte al consumo umano diretto o alla fabbricazione di ovoprodotti.

Se le uova derivano da altre specie avicole occorre accompagnare il termine "uova" con la denominazione della relativa specie. Si definiscono **uova rotte** le uova incrinates, presentanti difetti del guscio e delle membrane che provocano un'esposizione del loro contenuto. Le **uova incubate** sono le uova dal momento in cui ha inizio l'incubazione.

Le uova sono classificate in base alla qualità in:

- **categoria A** o "uova fresche";
- **categoria B**, uova destinate all'industria alimentare e non alimentare.

Le uova di categoria A in Europa non possono essere lavate. Esse sono suddivise anche in base al peso con la seguente ripartizione:

- **piccole (S)** meno di 52 g;
- **medie (M)** tra 53 e 62 g;
- **grandi (L)** tra 63 e 72 g;
- **grandissime (XL)** più di 73 g.

Possono essere definite uova di **categoria A extra**, le uova con camera d'aria di altezza non superiore a 4 mm, commercializzabili fino al nono giorno dalla data di deposizione; dopodiché sono commercializzate come uova di categoria A, con camera d'aria non superiore a 6 mm e con termine minimo di conservazione fino a 28 giorni dalla data di deposizione (reg. CE 589/2008 della Commissione del 23 giugno 2008).

Per verificare l'integrità del guscio, l'altezza della camera d'aria e la presenza di corpi estranei inclusi al momento della formazione, le uova vengono sottoposte a **speratura**. Questa operazione consiste nell'osservare l'uovo in controluce utilizzando una lampada apposita con fonte luminosa bianca di adeguata intensità. La speratura è impiegata anche per valutare lo stato dell'embrione nelle uova fecondate.

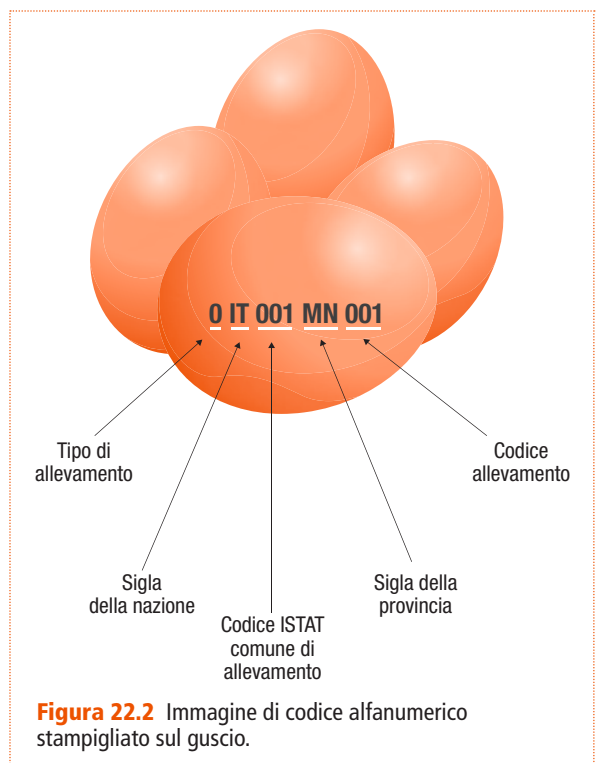
22.4.2 Il sistema di rintracciabilità

Nella filiera di produzione delle uova di categoria A, la rintracciabilità dei singoli prodotti presenti sul mercato è obbligatoria. Ogni allevamento e stabilimento di confezionamento deve essere autorizzato, riconosciuto e registrato presso le autorità competenti. Sul guscio di ogni uovo deve essere stampigliato un codice alfanumerico che permette di identificare (**Figura 22.2**):

- la **tipologia di allevamento** da cui proviene (0 = biologico, 1 = all'aperto, 2 = a terra, 3 = in gabbia);
- lo **Stato** (sigla di due lettere);
- il **codice ISTAT del Comune** di produzione (numero di tre cifre);
- la **provincia** (sigla di due lettere);
- il **codice dell'allevamento** dove è avvenuta la deposizione (numero di tre cifre).

22.4.3 Criteri microbiologici

Al fine di tutelare la salute del consumatore, il reg. CE 2073/2005 della Commissione del 15 novembre 2005 prescrive l'adozione di criteri di sicurezza alimentare per la commercializzazione di prodotti a base di uova e alimenti pronti contenenti uova crude. In particolare, viene imposta l'assenza di *Salmonella* in 25 g o mL di prodotto immesso sul mercato durante il relativo periodo di conservabilità. Sono, tuttavia, esclusi quegli alimenti per i quali il produttore può dimostrare che grazie al processo di lavorazione o alla composizione del prodotto il rischio di *Salmonella* risulti eliminato.



In sintesi

Gli starter microbici (o colture starter) rappresentano la principale soluzione per la gestione dei microrganismi necessari alla produzione di alimenti e bevande fermentate. Allo scopo di inquadrare il settore, è proposta una rassegna critica delle definizioni di starter microbico e un quadro generale dei criteri di classificazione. Accanto agli standard necessari per coniugare l'impiego di starter microbici con la tutela della salute pubblica, il capitolo propone un paragrafo sulle tematiche dello *screening* e del design incentrato su biodiversità microbica, criteri di selezione e approcci di miglioramento. Sono riportati cenni relativamente alle fasi di produzione, formulazione e conservazione. La trattazione si conclude con un approfondimento relativo ai cosiddetti "starter autoctoni".

26.1 Evoluzione delle produzioni fermentate e starter microbici

La fermentazione, dal latino *fervere*, indica un complesso di biotecnologie microbiche tradizionali alla base di un vasto paniere di produzioni che si stima concorrono in ragione di un terzo al consumo complessivo di cibo da parte dell'uomo (Capitolo 25). Un **alimento** (o bevanda) si definisce **fermentato** se il valore aggiunto realizzato dallo sviluppo microbico è decisivo in termini di qualità complessiva. Alimenti e bevande fermentate sono di cruciale rilevanza nutrizionale, funzionale, edonistica e culturale. Questa importanza riflette, ancora oggi, le istanze che hanno spinto il genere umano a fermentare matrici edibili. In effetti, accanto a un fondamentale miglioramento della conservabilità, lo sviluppo desiderato di batteri, lieviti e funghi filamentosi nella produzione di alimenti e bevande è in grado di migliorare le loro caratteristiche sostanziali, quali gusto, digeribilità, contenuto/biodisponibilità di nutrienti e di sostanze bioattive.

Per centinaia, spesso migliaia di anni (la pratica della fermentazione di matrici alimentari risalirebbe al Neolitico), i microrganismi associati alle fermentazioni sono stati gestiti inconsapevolmente e con un'aurea magica, ma con grande spirito empirico nell'osservazione e nella riproducibilità dei fenomeni. Per lungo tempo, infatti, la produzione di fermentati è stata realizzata attraverso fermentazioni spontanee e un complesso di pratiche che

è possibile ricondurre a due prassi consolidate (intimamente connesse tra di loro):

- l'arricchimento selettivo delle specie di interesse tecnologico nel microbioma spontaneo di riferimento attraverso la variazione di intensità di specifici parametri chimico-fisici (es. temperatura, pH; Capitolo 5);
- il periodico riutilizzo di una porzione di prodotto fermentato del ciclo precedente come inoculo per il ciclo successivo (gestione indicata in inglese con il termine *back-slopping*).

L'avvento della moderna microbiologia ha portato, oltre alla consapevolezza sulle dinamiche biologiche alla base delle biotecnologie tradizionali alimentari, lo sviluppo e la messa a punto di tecniche per l'isolamento e la propagazione in purezza di microrganismi di interesse. È affascinante ricordare come in queste prime fasi della storia della microbiologia, l'attività sperimentale e la produzione di conoscenza abbiano fatto largo utilizzo di matrici alimentari fermentate. Fu, infatti, lo stesso Louis Pasteur, considerato il padre della microbiologia moderna, a definire la fermentazione come "*la vie sans l'air*" (la vita senza l'aria).

L'inoculo con biomassa da singolo ceppo per la produzione di latte acido e formaggio in Europa, intorno al 1890, segna una svolta nella storia della produzione industriale di fermentati. La possibilità di isolare e

coltivare in coltura pura microrganismi concretizza la possibilità di produrre biomassa selezionata, gettando le basi della moderna industria degli starter microbici (o colture starter o *food cultures* o *microbial food cultures*). In estrema sintesi, la tecnologia delle colture starter prevede l'**aggiunta di biomassa microbica selezionata** alla matrice di interesse, favorendo il fatto che la numerosità cellulare dei batteri, lieviti e funghi filamentosi inoculati prenda il sopravvento sul microbioma indigeno, estrinsecando processi biochimici desiderati (per cui i microrganismi inoculati sono stati, appunto, selezionati). In questo modo, le colture starter permettono la gestione dei processi fermentativi, velocizzando, migliorando e standardizzando la manifattura di alimenti (e bevande) ad essi connessi.

Le prime produzioni di starter microbici furono realizzate intorno al 1900 da Emil Christian Hansen e Christian D.E. Hansen. Brevetti relativi a colture starter, invece, risalgono agli anni '40 e sono inerenti a produzioni in forma liquida, preparate coltivando i batteri nel latte sterilizzato. Sin dal secolo scorso, lo sviluppo delle conoscenze in microbiologia/biotecnologie microbiche e l'affermarsi di una moderna industria alimentare hanno concretizzato una continua sinergia nella ricerca e sviluppo relativa al settore degli starter microbici.

Le **matrici fermentate** su scala globale possono essere complessivamente classificate in nove gruppi principali sulla base della natura delle materie prime utilizzate:

1. cereali fermentati (Capitolo 31);
2. vegetali fermentati (Capitolo 32);

3. legumi fermentati;
4. radici/tuberi fermentati;
5. prodotti a base di latte fermentato (Capitoli 27 e 28);
6. prodotti a base di carne fermentati e conservati (Capitolo 29);
7. prodotti ittici fermentati, essiccati e affumicati (Capitolo 30);
8. prodotti fermentati vari (Capitoli 33 e 36);
9. bevande alcoliche (Capitoli 34 e 35).

L'impiego delle diverse tipologie di substrato non è egualmente diffuso su scala globale e alle diverse matrici spesso corrisponde la presenza di specifici generi microbici in termini di significato tecnologico (**Figura 26.1**).

La diversità geografica, la variabilità delle materie prime e le dominanze microbiche associate ai processi fermentativi portano a un paniere di prodotti fermentati stimato in circa 5000 diversi alimenti e bevande. Il valore aggiunto associato al processo fermentativo si estrinseca in riferimento ad aspetti diversi della qualità delle derrate (**Tabella 26.1**). Nel dettaglio, lo sviluppo desiderato di batteri, lieviti e funghi filamentosi è in grado di migliorare:

- la **qualità igienico-sanitaria** (es. sfavorendo lo sviluppo di microrganismi patogeni/produttori di cataboliti tossici e degradando, anche solo parzialmente, sostanze tossiche o nocive derivate dalla materia prima, come cianuri, goitrogeni, inibitori delle proteasi, acido fitico e acido ossalico);
- la **qualità nutrizionale** (es. implementando il tenore e la biodisponibilità di specifici micronutrienti);

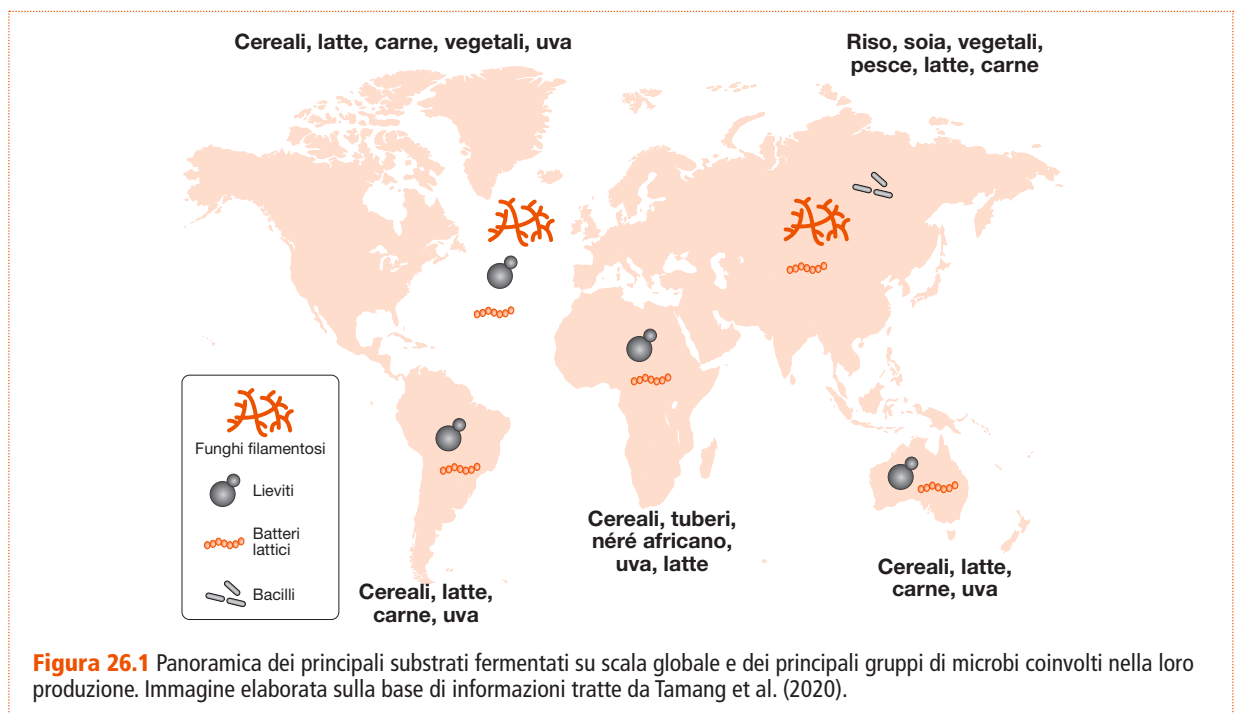


Tabella 26.1 Vantaggi degli alimenti (o bevande) fermentati e benefici dell'impiego di starter microbici.

Vantaggi degli alimenti	Benefici degli starter microbici
<ul style="list-style-type: none"> • Offrono un elevato grado di sicurezza igienico-sanitaria • Hanno una durata di conservazione maggiore rispetto alla materia prima • Vedono migliorate le proprietà che determinano la qualità • Vedono (parzialmente) degradate le sostanze tossiche o nocive associate alla materia prima • Richiedono solo la tecnologia di base e un basso consumo energetico • Soddisfano la domanda di alimenti naturali e biologici 	<ul style="list-style-type: none"> • Permettono una produzione alimentare con un livello uniforme di elevata qualità • Consentono il controllo del tempo di fermentazione • Concretizzano una gestione economica dei processi attraverso la riduzione dei tempi di processo e/o il miglioramento del ricambio delle masse in fermentazione • Comportano ridotti rischi igienico-sanitari • Permettono la manifattura di nuovi prodotti (non realizzabili con la sola fermentazione spontanea)

- la **qualità funzionale** (es. introducendo proprietà probiotiche e prebiotiche);
- la **qualità sensoriale** (es. migliorando il contenuto di composti organici volatili di interesse nella definizione dell'aroma, producendo macromolecole in grado di migliorare la struttura).

Assieme a innovazioni di prodotto, la fermentazione concretizza anche **innovazioni di processo**. Si tratta, infatti, di una biotecnologia che garantisce il raggiungimento degli obiettivi con un basso consumo energetico e un normale regime di tecnologie, realizzando un *driver* di preservazione e valorizzazione della biodiversità, perfettamente in linea con una prospettiva di sviluppo sostenibile e di consumi orientati a produzioni biologiche e con ridotte aggiunte di additivi.

Gli starter microbici e il loro impiego nelle filiere alimentari sono preziosi in quanto potenziano il valore aggiunto concretizzato dai processi fermentativi, garantendo la compatibilità del processo con i regimi di produzione industriale e con gli standard di qualità dei sistemi alimentari più evoluti, e facilitando la gestione dell'innovazione nel campo delle biotecnologie alimentari. Infatti, la possibilità di realizzare un controllo microbiologico puntuale della biomassa aggiunta come inoculo e l'opportunità di selezionare i microrganismi sotto il profilo qualitativo (es. analisi del genotipo, valutazione del fenotipo) rappresentano delle chiavi di volta per ottimizzare i processi (es. riducendo i tempi di produzione e aumentando i volumi di produzione) e a standardizzare su un livello di elevata qualità globale (igienico-sanitaria, nutrizionale, funzionale e sensoriale) gli alimenti e le bevande fermentate. Sotto questo profilo, è cruciale ricordare che nel lasso di tempo dedicato alla fermentazione, l'intensità delle variabili chimiche, fisiche e microbiologiche che caratterizzano la matrice è tale da promuovere la crescita microbica. In questo arco temporale, nel caso di fermentazioni spontanee, non è favorita la sola crescita di batteri, lieviti e funghi filamentosi "tecnologici" (desiderati in quanto compatibili con il regime delle tecnologie produttive implementate nella specifica filiera), ma è possibile anche lo sviluppo di specie/ceppi alteranti e patogeni, in grado di contaminare la matrice

portando al deprezzamento della qualità complessiva e favorendo l'insorgenza di malattie/patologie a trasmissione alimentare, rispettivamente (Capitolo 2). Allo stato attuale, l'approccio più efficace per minimizzare i rischi di contaminazione è rappresentato dall'aggiunta di una quantità sufficiente di cellule di microrganismi selezionati in quanto "tecnologici", ovvero, dall'inoculo di uno starter microbico specifico per quel determinato ambito produttivo. Il fatto che la coltura starter favorisca, al contempo, l'ottimizzazione e la gestione dei processi, giustifica l'estremo interesse che questa soluzione biotecnologica riceve da decenni. Ovviamente, tutte le considerazioni vanno calibrate e calate nel quadro di contesti diversi su scala globale. Non possiamo trascurare, per esempio, che nei Paesi in via di sviluppo gli alimenti fermentati non sono sempre prodotti su scala industriale, il che influenza, ineluttabilmente, l'adozione di starter microbici nella loro manifattura.

Può essere utile concludere questa introduzione riflettendo sul fatto che gli starter microbici rappresentano un settore cruciale in quella continua e preziosa co-evoluzione (a volte vera e propria domesticazione) dei microrganismi di interesse alimentare con le "umane faccende". Le colture starter, in questo senso, rappresentano un obiettivo, uno strumento e una forza evolutiva in queste dinamiche di co-evoluzione, contribuendo a dare forma a un sistema complesso e affascinante in cui diversità microbica e diversità umana interagiscono e a spiegare gran parte dell'immensa ricchezza enogastronomica che quotidianamente apprezziamo.

26.2 Definizioni di starter microbici: la prospettiva dei diversi portatori di interesse

Gli starter microbici (e il loro utilizzo) rappresentano un settore di produzione e innovazione caratterizzato da una dimensione transdisciplinare. Questo comparto vede coinvolti portatori di interessi da diversi ambiti (es. industriale, della ricerca scientifica e normativo)

e domini disciplinari (es. ecologia, microbiologia, tecnologie alimentari e ingegneria). Sintomatica di questa complessità è l'evoluzione, che è possibile denotare nella letteratura di riferimento della semplice definizione di starter microbico (*vedi Box Definizioni di "coltura starter" riportate nella letteratura scientifica di riferimento*).

La prima definizione, molto lineare, propone un duplice orientamento microbiologico e tecnologico, infatti da un lato sottolinea come lo starter si sostanzia in biomassa microbica di almeno un microrganismo, dall'altro evidenzia come la funzione di questa quantità di cellule, una volta aggiunta alla matrice, sia di velocizzare e standardizzare la produzione guidando il processo di fermentazione. Questa descrizione può arricchirsi di una prospettiva olistica lasciandosi "contaminare" da definizioni che recepiscono, di volta in volta, un diverso grado di complessità. Gli starter microbici (1) sono rappresentati da batteri, lieviti o funghi filamentosi utilizzati nella produzione alimentare, (2) sono formulazioni costituite da una o più colture microbiche di interesse alimentare (possono contenere più specie e ceppi), (3) sono preparazioni di microrganismi vivi, incluse le loro forme dormienti, (4) sono microrganismi idonei all'uso alimentare con attività metaboliche note e stabili. Possono comprendere i componenti associati ai terreni colturali (che risalgono alla fase di produzione) e additivi necessari (a) per la sopravvivenza, conservazione, standardizzazione dei microrganismi stessi (es. come crio-preserved e/o composti antiossidanti) e (b) per favorire la loro funzionalità tecnologica nei processi produttivi alimentari. Le colture starter commerciali sono inoculi standardizzati, prodotti da aziende specializzate e garantiti da rigorosi controlli di qualità che ne assicurano sicurezza, composizione e prestazioni. Sono utilizzate per avviare rapidamente il processo di fermentazione, producono un'attività metabolica dagli effetti desiderati sul substrato di fermentazione, riducendo il rischio di arresti di fermentazione e migliorando la sicurezza igienico-sanitaria, la stabilità e la qualità sensoriale (aspetto, struttura, consistenza e sapore) dei prodotti finali.

Il risultato è una **definizione articolata** che, in relazione poche righe, mette in evidenza la complessità di un intero settore rilevante delle biotecnologie alimentari, tanto che i paragrafi che precedono e seguono, possono essere ricondotti e/o essere considerati approfondimenti di questa definizione composita. Nella definizione, inoltre, indubbiamente è possibile enucleare istanze che provengono da contesti diversi, quali normativo, industriale e scientifico. Con riferimento ai portatori di interessi da questi diversi ambiti, proporre esempi può essere utile a sottolineare l'importanza degli starter microbici e a creare una prima rete di punti di riferimento per esplorare le dinamiche di settore. È possibile desumere la rilevanza industriale legata alla produzio-

Definizioni di "coltura starter" riportate nella letteratura scientifica di riferimento

1. Una coltura starter può essere definita come una preparazione microbica di un gran numero di cellule di almeno un microrganismo da aggiungere a una materia prima per produrre un alimento fermentato accelerando e guidando il suo processo di fermentazione (Leroy e De Vuyst, 2004).
2. Le colture microbiche alimentari sono rappresentate da cellule vive di batteri, lieviti o funghi filamentosi utilizzati nella produzione alimentare. Queste preparazioni microbiche sono formulazioni, costituite da una o più colture microbiche di interesse alimentare (possono contenere una o più specie), comprendenti: residui di terreni colturali impiegati in produzione di cui è inevitabile la presenza e componenti necessari per la sopravvivenza, conservazione, standardizzazione dei microrganismi stessi e per facilitare la loro applicazione nel processo di produzione alimentare (Herody et al., 2010).
3. Le colture starter sono preparazioni di microrganismi vivi o delle loro forme dormienti, la cui attività metabolica ha degli effetti desiderati nel substrato di fermentazione edibile. I preparati possono contenere residui di substrato di cui è inevitabile la presenza e additivi che supportano la vitalità e la funzionalità tecnologica dei microrganismi stessi (come crio-preserved e/o composti antiossidanti) (Vogel et al., 2011).
4. Le colture microbiche alimentari sono cellule vive di batteri, lieviti o funghi filamentosi utilizzate nella produzione alimentare. Queste preparazioni microbiche sono formulazioni costituite da una o più specie e/o ceppi microbici, compresi i componenti associati ai terreni colturali (che risalgono alla fase di produzione) e i componenti necessari per la sopravvivenza, conservazione, standardizzazione dei microrganismi stessi e per facilitare la loro applicazione nei processi produttivi alimentari (Bourdichon et al., 2012).
5. Le colture starter sono microrganismi idonei all'uso alimentare con attività metaboliche note e stabili e altre caratteristiche che vengono utilizzate per produrre alimenti fermentati di aspetto, struttura, consistenza e sapore desiderabili (Doyle et al., 2013).
6. Le colture starter commerciali sono inoculi standardizzati da utilizzare per la produzione di alimenti fermentati. Sono prodotte da aziende specializzate. Vengono condotti rigorosi controlli di qualità e garanzia di qualità per garantire prestazioni, composizione e sicurezza della coltura (Hansen, 2014).
7. Le colture starter sono definite come preparati microbici selezionati utilizzati per aumentare l'efficienza dei processi di fermentazione. Queste colture microbiche vengono utilizzate per avviare rapidamente il processo di fermentazione e, quindi, sono note come colture starter. L'aggiunta selettiva di colture starter alle materie prime facilita il controllo dell'intero processo di fermentazione, riducendo il rischio di arresti di fermentazione e migliorando la sicurezza, la stabilità e la qualità sensoriale dei prodotti finali (Pereira et al., 2020).

ne di starter microbici analizzando l'elenco di imprese nazionali e internazionali riportate nella **Tabella 26.2**.

Esiste un certo grado di **specializzazione delle produzioni**. Nello specifico, esiste una storica distinzione tra le aziende produttrici di microrganismi procarioti ed eucarioti, batteri lattici e saccaromiceti, principalmente. Con il trascorrere del tempo, le specificità di produzione sono diventate più sfumate e la gamma proposta si è diversificata in termini di specie, ceppi e filiere di riferimento. Esistono associazioni dei produttori e di settore

funzionali ad attività di rappresentanza, particolarmente in relazione all'interazione con gli ambiti di regolazione e di consumo (European Food and Feed Cultures Association e International Dairy Federation, EFFCA e IDF, rispettivamente; **Tabella 26.3**).

Vi sono enti preposti alla regolamentazione/normazione del mercato e a garantire la pubblica sicurezza. Si tratta degli organi di governo e legislativi (es. Commissione europea) e nazionali. Le attività di regolamentazione/normazione beneficiano di un punto di vista scienti-

Tabella 26.2 Lista non esaustiva di aziende nazionali e internazionali produttrici di starter microbici.

Azienda	Paese	Settore/i di riferimento
AB MAURI	Regno Unito	Prodotti da forno, Vino
Alce	Italia	Lattiero-caseario
Caldwell Bio Fermentation	Canada	Vegetali
Chr. Hansen	Danimarca	Lattiero-caseario, Vegetali, Insaccati, Ittico, Vino
CSK	Paesi Bassi	Lattiero-caseario
Cultures for Health	Stati Uniti	Lattiero-caseario, Kefir d'acqua, Kombucha, Vegetali
Cutting Edge Cultures	Stati Uniti	Lattiero-caseario, Vegetali
Danisco-DuPont	Danimarca	Lattiero-caseario, Vegetali
DSM	Paesi Bassi	Lattiero-caseario
Fonterra Research Centre	Nuova Zelanda	Lattiero-caseario
Gewürzmüller	Germania	Insaccati
Lactina Ltd.	Bulgaria	Lattiero-caseario
LAFFORT	Francia	Vino
Lallemand	Canada	Prodotti da forno, Vino, Birra
Lyo-San Yogourmet	Stati Uniti e Canada	Lattiero-caseario
Mediterranea Biotecnologie Srl	Italia	Lattiero-caseario
Sacco Srl	Italia	Lattiero-caseario, Vegetali, Insaccati, Ittico, Prodotti da forno
Wyeast Laboratories Inc.	Stati Uniti	Vino, Birra, Sidro, Sakè

Fonte: elaborata sulla base di informazioni tratte dalla pubblicazione Hansen (2002).

Tabella 26.3 Istituzioni preposte e associazioni dei portatori di interessi coinvolti nella definizione di regolamenti e criteri per garantire la sicurezza degli starter microbici in Unione Europea (UE).

Sigla	Ruolo
Commissione UE	La Commissione europea è responsabile della creazione della legislazione alimentare generale e della gestione del rischio (politica) dei sistemi di sicurezza insieme agli Stati membri.
EFSA	L'Autorità Europea per la Sicurezza Alimentare (<i>European Food Safety Authority</i>) è un'agenzia finanziata dall'Unione europea che opera indipendentemente dalle istituzioni legislative ed esecutive europee e dagli Stati membri della UE. L'EFSA è responsabile della valutazione del rischio.
FEEDAP	Il gruppo di esperti scientifici dell'EFSA sugli additivi e i prodotti o le sostanze utilizzati nei mangimi animali fornisce consulenza scientifica sulla sicurezza e/o l'efficacia degli additivi e dei prodotti o delle sostanze a base di microrganismi utilizzati nei mangimi animali.
BIOHAZ	Il gruppo di esperti scientifici dell'EFSA sui pericoli biologici fornisce consulenza scientifica sui rischi biologici in relazione alla sicurezza alimentare e ai criteri microbiologici.
IDF	L' <i>International Dairy Federation</i> rappresenta il settore lattiero-caseario globale e garantisce che le migliori competenze scientifiche siano utilizzate per supportare latte di alta qualità e prodotti lattiero-caseari nutrienti, sicuri e sostenibili.
EFFCA	L' <i>European Food and Feed Cultures Association</i> collabora, sia all'interno dell'UE sia su scala globale, con un'ampia gamma di portatori di interessi attivi nel settore degli starter microbici.

Microbiologia alimentare applicata

a cura di
Luca Cocolin
Marco Gobbetti
Erasmus Neviani

Gli autori

Il libro nasce dalla collaborazione con SIMTREA, la Società Italiana di Microbiologia Agraria, Alimentare e Ambientale, e coinvolge i docenti che insegnano Microbiologia degli alimenti in diversi atenei italiani.



Risorse online

A questo indirizzo si può accedere al sito di complemento al libro

online.universita.zanichelli.it/cocolin



Ebook

Chi acquista il libro nuovo può accedere gratuitamente all'**ebook**, seguendo le istruzioni presenti nel sito.



Per l'accesso registrarsi su

my.zanichelli.it

e abilitare le risorse.

Maggiori informazioni

nelle pagine iniziali del libro.

L'accesso all'ebook e alle risorse digitali protette è personale, non condivisibile e non cedibile, né autonomamente né con la cessione del libro cartaceo.

Moltitudini di microrganismi sono presenti in tutti gli alimenti, con l'eccezione di quelli sterili. Svolgono spesso un ruolo positivo e protecnologico, come nel caso degli alimenti fermentati, o sono in grado di produrre sostanze antimicrobiche che consentono la biopreservazione da altri microrganismi patogeni e alteranti; oppure possono anche essere responsabili del deterioramento degli alimenti o agenti di malattie a trasmissione alimentare. Negli ultimi anni tuttavia si è venuta a determinare una nuova visione del mondo microbico, non più focalizzata su una singola popolazione ma che si allarga, con uno sguardo d'insieme, verso la "comunità" dei microrganismi di un certo ambiente: si parla a questo proposito di microbiota; e anche, estendendo lo studio alla totalità del patrimonio genetico posseduto dal microbiota, di microbioma.

Microbiologia alimentare applicata supera l'idea della microbiologia degli alimenti come disciplina che studia soprattutto la contaminazione da microrganismi per passare a descrivere invece il ruolo fondamentale che i microrganismi hanno nella trasformazione e nella conservazione degli alimenti stessi, e l'altrettanto significativo impatto sulla salute e sul benessere della persona.

Dopo un'ampia introduzione sui diversi aspetti dell'ecofisiologia dei microrganismi e sulle tecniche di controllo dello sviluppo batterico, il testo tratta i vari gruppi di alimenti, suddivisi tra prodotti fermentati e non fermentati, e si conclude con una parte dedicata ai probiotici e al microbiota umano.

Si affrontano inoltre, con competenze di diversa natura, le principali procedure per l'identificazione e la tipizzazione dei microrganismi negli alimenti, sia come target per indagini di tipo igienico-sanitario, sia per la ricerca di batteri di interesse tecnologico, ovvero associati a trasformazioni alimentari.

I curatori

Luca Cocolin è professore ordinario di Microbiologia agraria presso l'Università degli Studi di Torino ed è stato presidente di SIMTREA nel periodo 2018-2020.

Marco Gobbetti è professore ordinario di Microbiologia agraria presso la Libera Università di Bolzano ed è stato presidente di SIMTREA nel periodo 2010-2012.

Erasmus Neviani è professore ordinario di Microbiologia agraria presso l'Università di Parma ed è stato presidente di SIMTREA nel periodo 2013-2015.

COCOLIN*MICROBIOL ALIM APPL(CEA LUM

ISBN 978-88-08-12007-6



9 788808 120076

3 4 5 6 7 8 9 0 1 (64R)