



# Controllo della crescita dei microrganismi negli alimenti



# Gli alimenti come ecosistemi

- o Gli alimenti sono di fatto ecosistemi, composti da un **habitat** (generalmente di origine biotica) e da una comunità di organismi viventi (**biocenosi**, generalmente composta soltanto da microrganismi, anche se possono essere presenti artropodi)
- o Per la crescita e sopravvivenza dei microrganismi possono essere importanti le caratteristiche di **microhabitat**, spesso di pochi mm di diametro, che possono essere diverse da quelle presenti nella massa dell'alimento



# I microrganismi e gli alimenti

## Utili

Agenti di fermentazioni

- Fermenti lattici
- Fermenti propionici
- Corineformi
- Stafilococchi coag. -
- Lieviti
- Muffe

## Dannosi

Agenti di deterioramento

- Fermenti lattici
- Fermenti propionici
- Sporigeni
- Psicrotrofici
- Enterobatteri
- Muffe e lieviti

Patogeni

- S. aureus
- Patogeni enterici
- L. monocytogenes
- ...



# Fonti di contaminazione

- o L'interno di tessuti animali o vegetali sani è sterile
- o La contaminazione delle superfici, in termini qualitativi e quantitativi, è molto variabile
- o Prima e dopo la raccolta o la macellazione le superfici e l'interno dei tessuti possono essere contaminati da una varietà di fonti, ciascuna delle quali può apportare una contaminazione specifica
  - Aria
  - Acqua
  - Suolo
  - Feci, liquami, acque reflue
  - Altri ingredienti
  - Superfici di macchine, attrezzi, etc.
  - Animali
  - Operatori



# I fattori che influenzano lo sviluppo e la sopravvivenza dei microrganismi contaminanti

- **Fattori intrinseci:** sono quelli **caratteristici dell'alimento**, derivanti dalla sua **composizione** o **struttura**. **Esempi:** pH,  $a_w$ , inibitori naturali, potenziale redox, barriere fisiche, contenuto in nutrienti
- **Fattori estrinseci:** sono i **fattori ambientali** che agiscono durante la trasformazione o conservazione dell'alimento. Possono modificare i fattori intrinseci. **Esempi:** contaminazioni secondarie, processi letali (termici, con radiazioni, etc.), aggiunta di conservanti, confezionamento, temperatura e atmosfera di conservazione)
- **Fattori impliciti:** sono i fattori che derivano dall'interazione fra popolazioni microbiche durante la produzione o la conservazione. **Esempi:** competizione, amensalismo, commensalismo, mutualismo, parassitismo



# Il controllo dei microrganismi

- o Evitare o ridurre la contaminazione con i microrganismi indesiderati
- o Distruggere i microrganismi indesiderati
- o Rallentare la crescita dei microrganismi indesiderati (o favorire la crescita dei microrganismi desiderati)



# Crescita e sopravvivenza dei microrganismi



# Crescita, sopravvivenza e morte dei microrganismi

o Il controllo della crescita dei mo negli alimenti è importante per:

- Limitare lo sviluppo di microrganismi dannosi
- Favorire lo sviluppo dei microrganismi utili (agenti di fermentazione, probiotici)

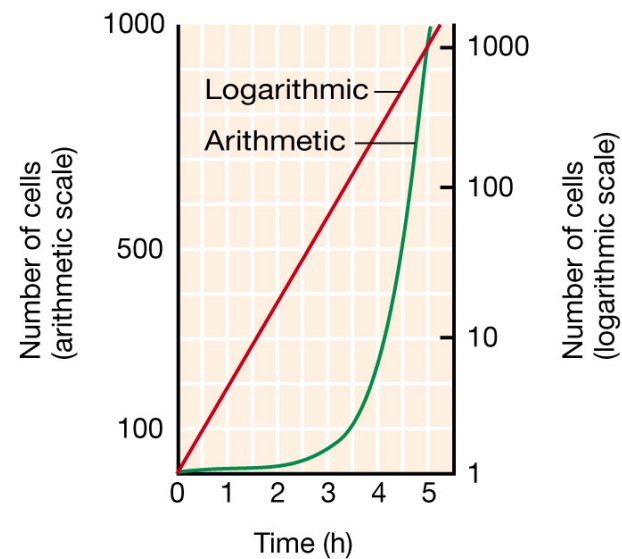




# La crescita per scissione binaria

Time (h)	Total number of cells	Time (h)	Total number of cells
0	1	4	256
0.5	2	4.5	512
1	4	5	1,024
1.5	8	5.5	2,048
2	16	6	4,096
2.5	32	.	.
3	64	.	.
3.5	128	10	1,048,576

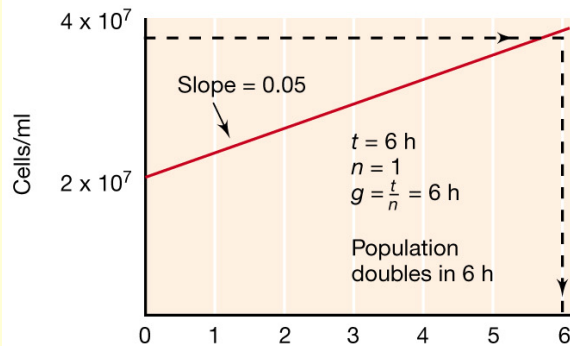
(a)



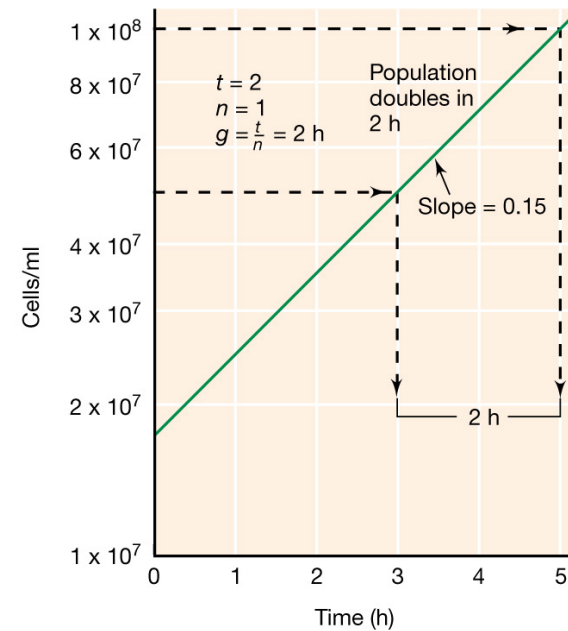
(b)



# Stima del tempo di generazione



(a)

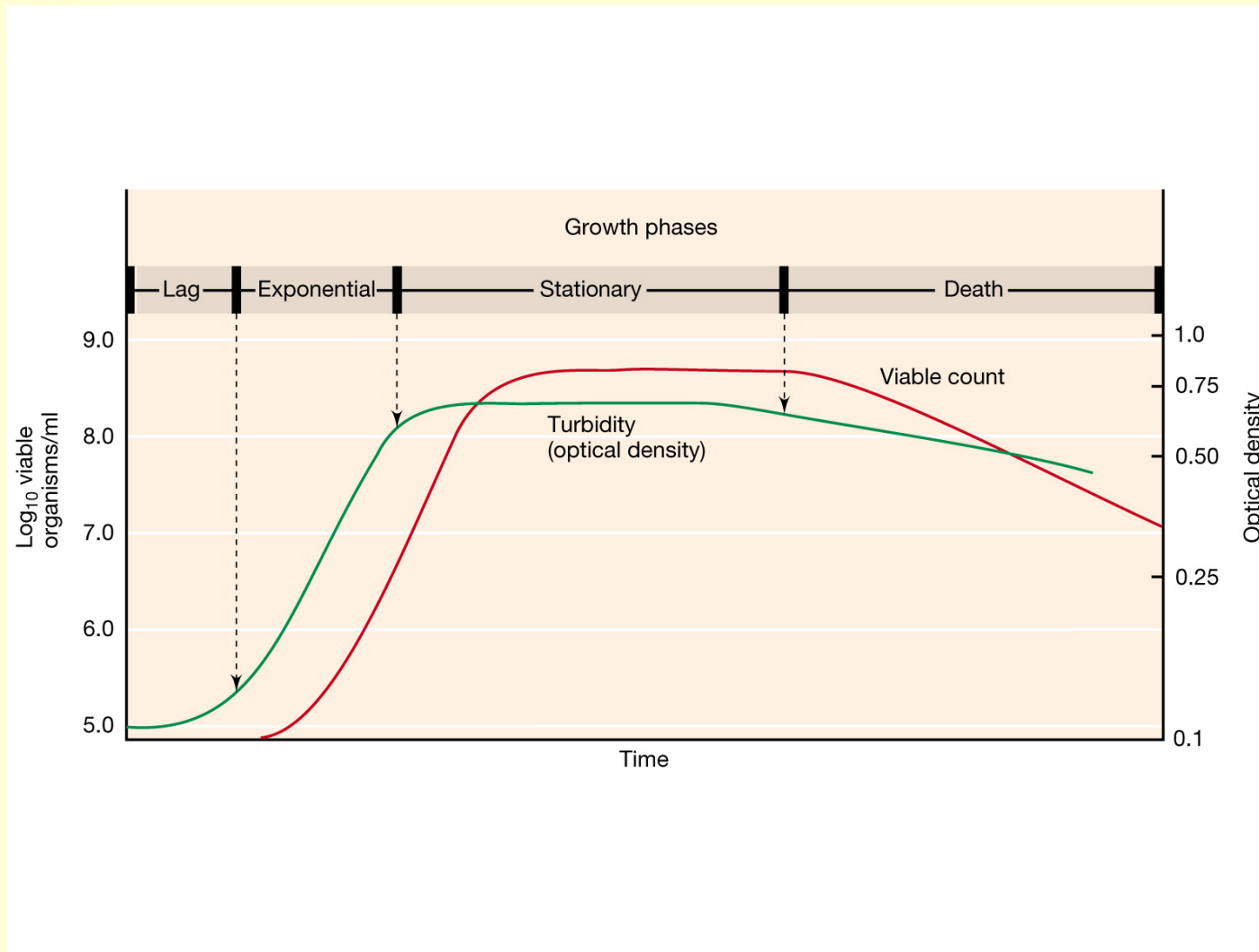


(b)

In fase esponenziale, quando la crescita è bilanciata, se si mette in relazione il logaritmo della biomassa (o di un suo componente) o del numero di cellule con il tempo **si ottiene una linea retta, dalla cui pendenza è possibile calcolare la velocità specifica di crescita**. Da quest'ultima con semplici calcoli è possibile ottenere il tempo medio di generazione.



# La curva di crescita





# Risposte alle condizioni ambientali

All'interno del range di condizioni che permettono la crescita, la velocità di crescita specifica, partendo dal minimo, cresce fino a che non si raggiunge l'optimum, poi diminuisce.

Immediatamente al di fuori del range di condizioni che permette la crescita la cellula non è in grado di crescere e inizia a subire **stress subletali** (le cellule rimangono vitali ma non possono crescere in condizioni di stress):

- **un'esposizione prolungata a queste condizioni può determinare la morte della cellula (cioè la perdita irreversibile della capacità di riprodursi).**

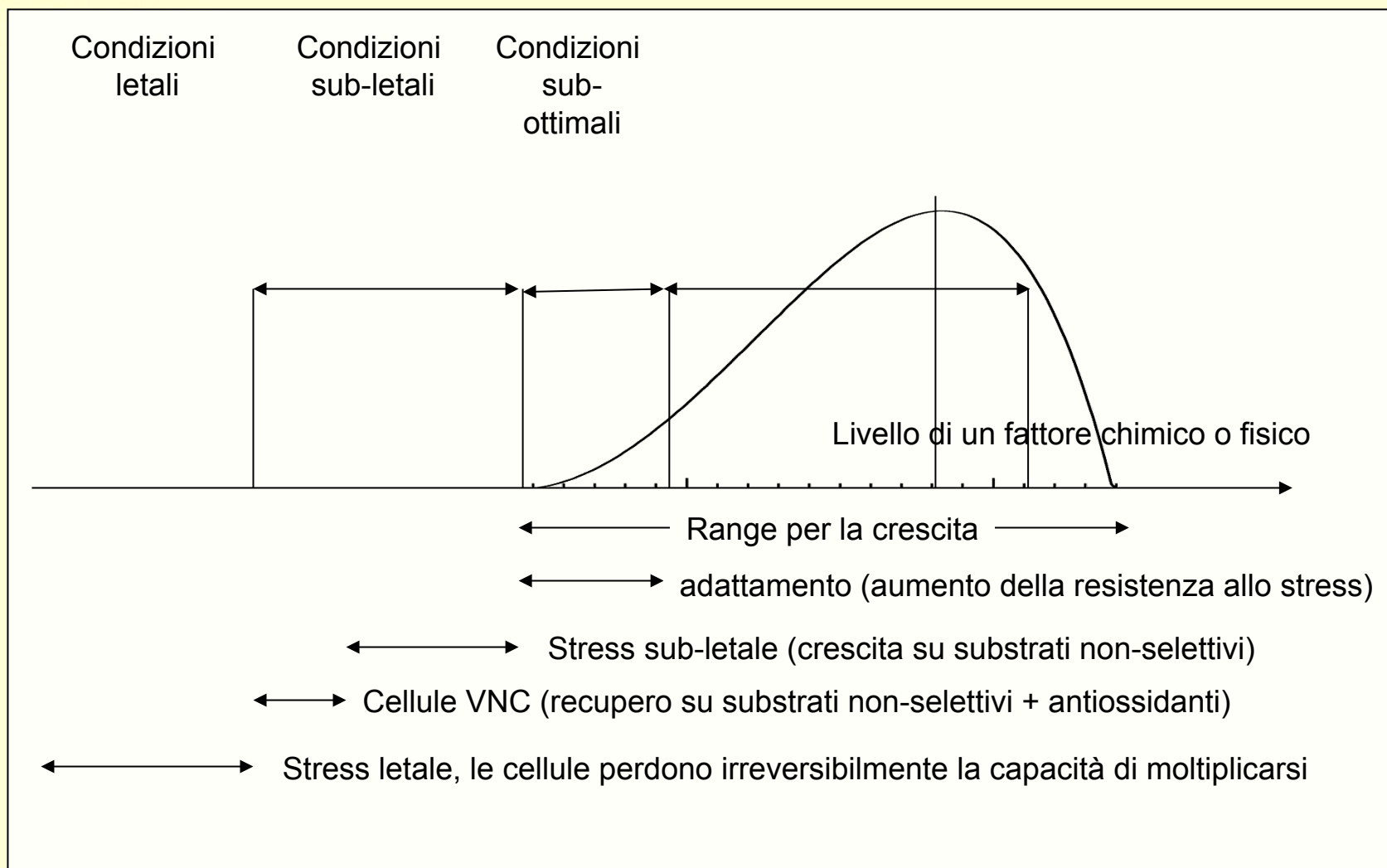


# Risposte alle condizioni ambientali

- Le **cellule** che si trovano **esposte a danni subletali** diventano in genere **incapaci di riprodursi sui substrati selettivi** sui quali sono in grado di riprodursi le cellule sane.
- La crescita in condizioni subottimali permette alla cellula di adattarsi e di sopravvivere meglio in condizioni letali e subletali.
- Talvolta anche quando si trova **in condizioni subletali** la cellula, pur non essendo in grado di crescere, è in grado di **sintetizzare proteine e altre sostanze che ne migliorano la resistenza allo stress.**



# Risposte alle condizioni ambientali





# Vita, danno subletale, morte

Stato delle cellule	Crescita su terreni non selettivi	Crescita su terreni selettivi	Membrana cellulare integra	Attività metabolica
Vitali, non danneggiate	Sì	Sì	Sì	Sì
Vitali, danneggiate a livello subletale	Sì	Sì, dopo resuscitazione	Sì	Sì
Vitali, non coltivabili	Sì, dopo resuscitazione	No	Sì	Sì
Morte	No	No	No	No



# Adattamento allo stress

## Stress:

- Acido
- Termico
  - Alte T°C
  - Basse T°C
- Osmotico
- Nutrizionale
- Ossidativo
- Sostanze tossiche
- Alte pressioni
- Altri

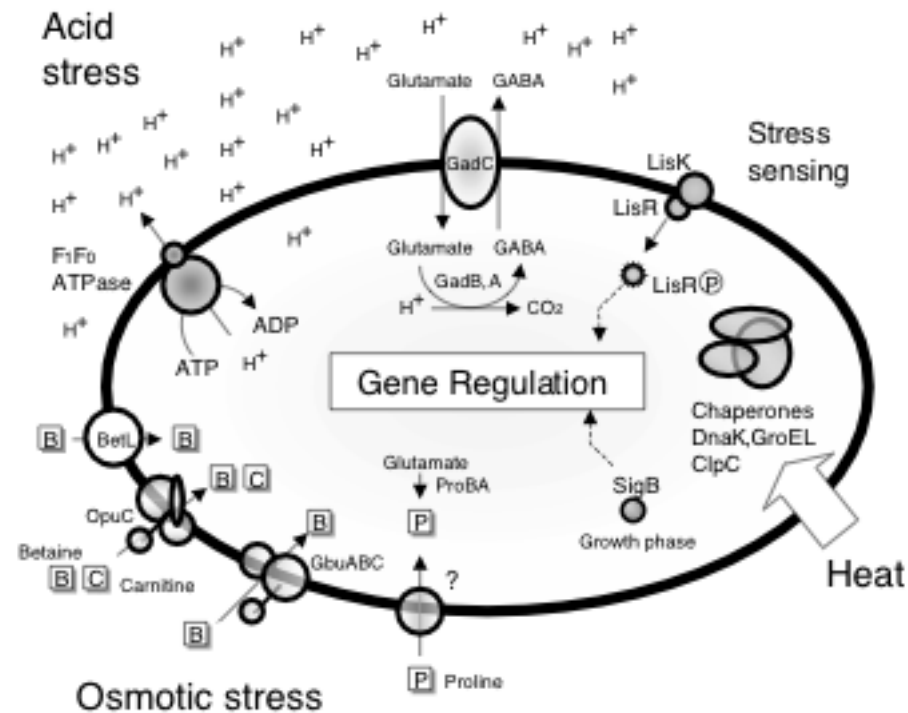


Fig. 2. A representation of the systems discussed in the text and their proposed roles in stress protection/adaptation.





# Microrganismi e stress

I microrganismi negli alimenti sono esposti ad una varietà di stress chimici o fisici.

Se l'entità dello stress eccede una certa soglia la cellula perde irreversibilmente la capacità di moltiplicarsi (cioè muore).

**Livelli di stress più bassi** possono causare **danni subletali** che rendono le cellule temporaneamente incapaci di riprodursi: **a questi livelli e a livelli ancora più bassi la cellula può adattarsi attivando un certo numero di meccanismi di protezione.**



# Microrganismi e Stress

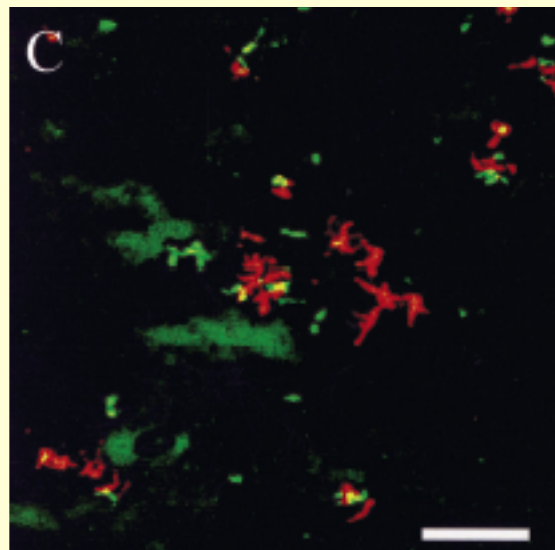
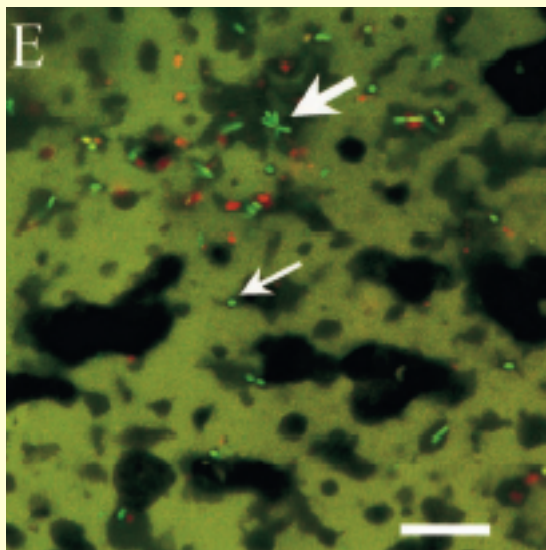
Tutte le cellule, per es., sono in grado di attivare una risposta allo stress generalizzata (GSR) in fase stazionaria:

- le cellule in fase stazionaria sono più resistenti delle cellule in fase esponenziale a stress chimici e fisici.

Molti microrganismi hanno meccanismi di risposta allo stress specifici e generalizzati che possono essere attivati anche in fase esponenziale in seguito all'esposizione a stress subletali.



## Uso di coloranti fluorescenti per la visualizzazione di cellule vive e morte



Cellule di microrganismi probiotici colorate con il colorante LIVE/DEAD baclight, che colora di rosso le cellule morte (con membrana danneggiata) e di verde le cellule vive



# Cellule vitali e non coltivabili

In seguito ad esposizione a stress le cellule possono entrare in uno **stato temporaneo di non coltivabilità** (in genere le cellule diventano più piccole e quasi inattive da un punto di vista metabolico).

**Le cellule vitali ma non coltivabili (VNC)** possono essere “resuscitate” riportandole nelle condizioni iniziali o aggiungendo ai substrati di coltura sostanze che neutralizzano le specie reattive dell’ossigeno (ROS), come il sodio piruvato.

La vitalità delle cellule non coltivabili può essere valutata colorandole con coloranti fluorescenti che mostrano la presenza di piccole attività metaboliche

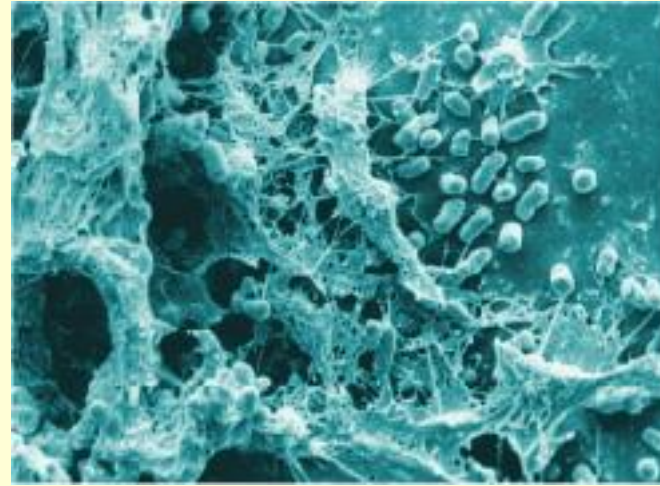
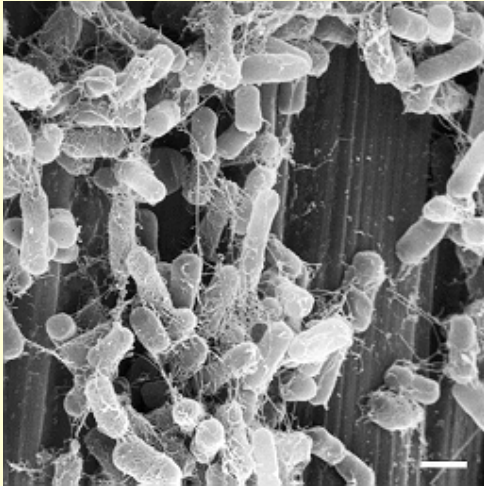


# Conseguenze dello stress e della non coltivabilità

- o Microrganismi stressati a livello subletale potrebbero non essere in grado di crescere in terreni selettivi fornendo falsi risultati negativi nei test microbiologici (uso di tecniche di recupero) pur essendo in grado di tornare vitali se le condizioni stressanti vengono rimosse o attenuate
- o Cellule che mostrano una risposta generalizzata allo stress o un risposta adattiva in fase logaritmica potrebbero superare gli stress imposti dalla tecnologia di trasformazione,, e deteriorare gli alimenti o renderli pericolosi da un punto di vista igienico



# Crescita in biofilm



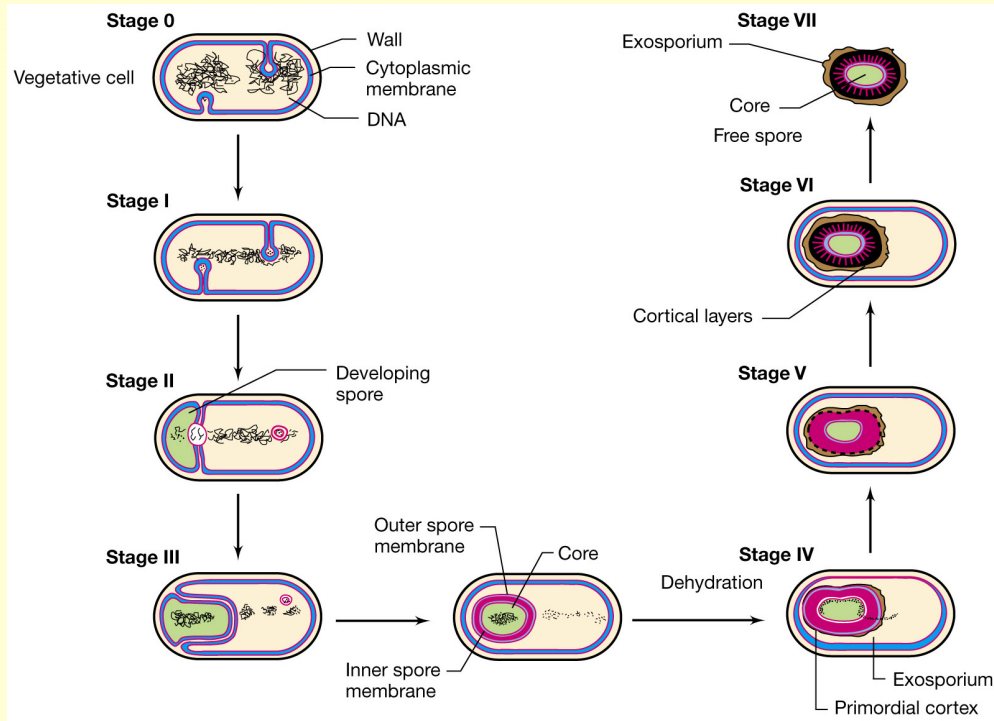
I microrganismi possono crescere su superfici formando dei **biofilm**.

I biofilm possono comprendere associazioni complesse di microrganismi che si attaccano alle superfici (anche acciaio inossidabile) producendo materiale polisaccaridico.

Microrganismi in biofilm sono particolarmente difficili da allontanare dalle superfici e possono essere molto resistenti agli stress e all'azione di detergenti e sanificanti.



# Formazione di un'endospora



Alcuni batteri sono in grado di produrre **forme dormienti estremamente resistenti alle condizioni di stress** (in particolare all'essiccazione, alle alte temperature e alle radiazioni), che si formano all'interno della cellula madre in seguito ad un complesso fenomeno di differenziazione: **le endospore**.

Il processo di formazione delle endospore richiede numerosi passaggi. Nello stadio VI si sviluppa la resistenza al calore e agli agenti chimici



# Endospora

La resistenza delle endospore alle condizioni avverse è dovuta a:

- a. Forte disidratazione
- b. Presenza di una parete spessa
- c. Abbondanza nel core di piccole proteine solubili in ambiente acido (SASP) che legano fortemente il DNA proteggendolo dall'effetto di radiazioni e da altri danni fisici e chimici
- d. Attività metabolica praticamente assente.

Altri gruppi di microrganismi sono in grado di produrre forme dormienti più resistenti delle cellule vegetative (**cisti** prodotte da alcuni batteri, molti tipi di spore sessuali di funghi, clamidospore, sclerozi), in genere caratterizzate da pareti spesse e forte disidratazione. **Nessuna è però resistente come le endospore batteriche.**

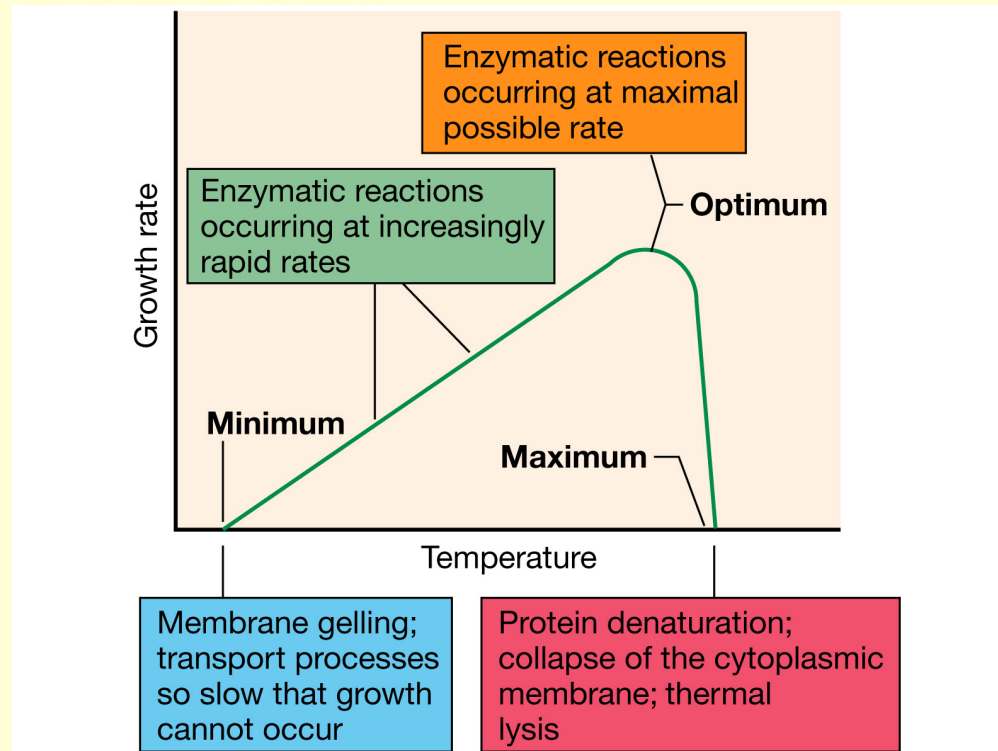




# Controllo dei microrganismi mediante trattamenti termici



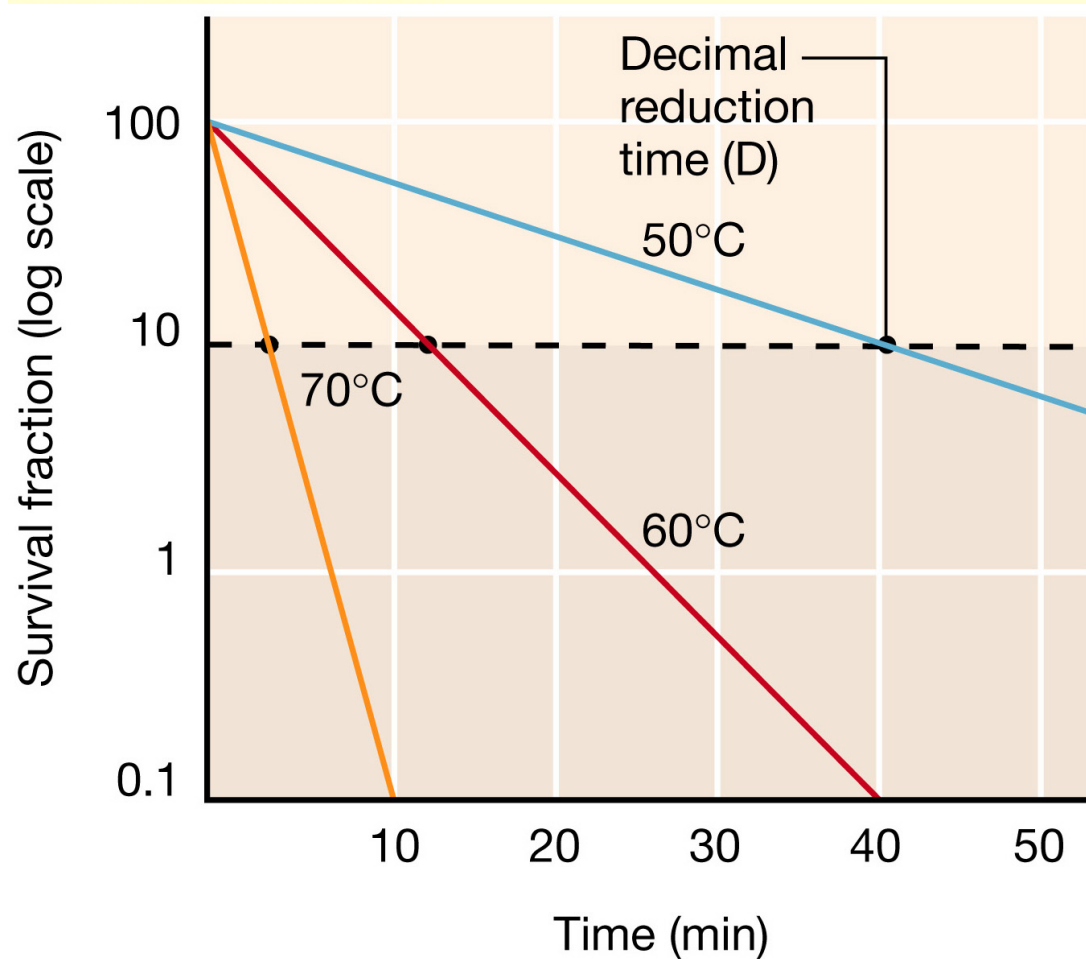
# Effetto della temperatura sui microrganismi



I trattamenti termici sono uno dei fattori estrinseci più importanti per il controllo dei microrganismi. L'esposizione dei microrganismi a temperature superiori al massimo per la crescita causa diversi tipi di danno che portano più o meno rapidamente alla morte dei microrganismi.



# Cinetica di morte termica: curve di sopravvivenza



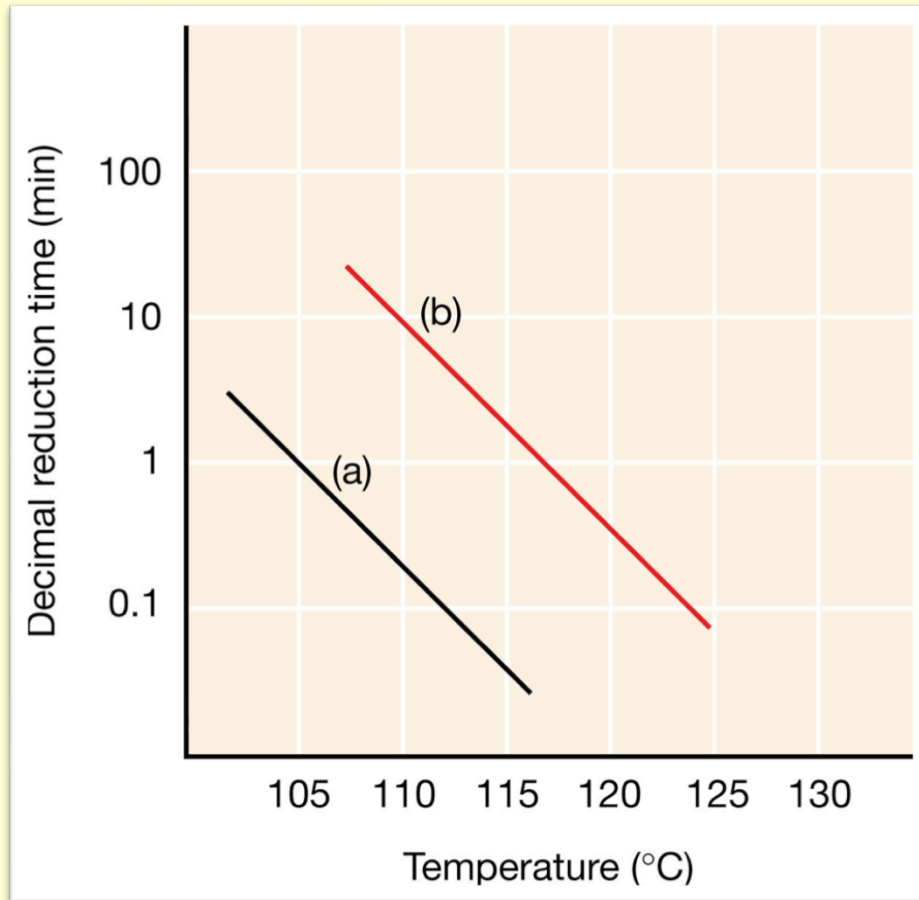
**D (tempo di riduzione decimale):** tempo richiesto per ridurre di 10 volte il n. di cellule vive in una popolazione microbica ad una data temperatura

**Z:** l'incremento in temperatura necessario a diminuire D di 10 volte.

➤ La pendenza della retta dà un'indicazione quantitativa della sensibilità al calore del microrganismo in esame nelle condizioni adottate



# Relazione fra D e temperatura: curva di morte termica



Relazione fra temperatura di trattamento e tasso di morte per 2 organismi: un mesofilo (a) e un termofilo (b).

Z è l'incremento in temperatura necessario a diminuire D di 10 volte

Per a) per ottenere la riduzione decimale sono necessari meno di 20 s a 110°C

Per b) nelle stesse condizioni sono necessari 10min

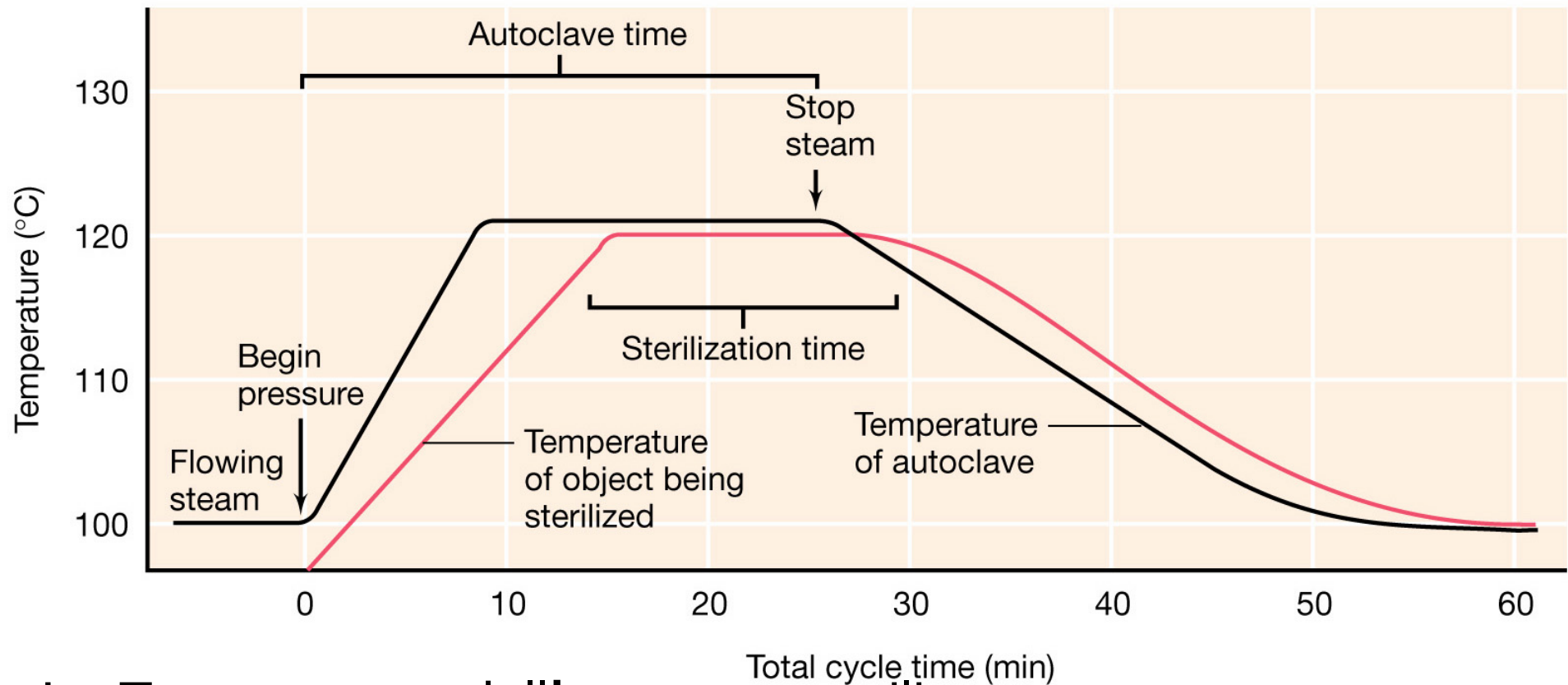


# Fattori che influenzano la resistenza termica dei microrganismi

- o **Resistenza intrinseca**: differenze fra specie, ceppo, tipo di cellule (vegetative, spore, tipo di spore)
- o **Fattori ambientali durante la crescita della cellula o spora** (età, temperatura, pH,  $a_w$ , substrato di crescita, etc.)
- o **Fattori ambientali durante il trattamento termico** (composizione del substrato, pH,  $a_w$ , temperatura)



# Rappresentazione della relazione fra tempo e temperatura in un'autoclave



La Temperatura dell'oggetto sterilizzato aumenta e diminuisce più lentamente della temperatura dell'autoclave .



## Fattori che influenzano la penetrazione del calore

- o Materiale di cui è fatto il contenitore
- o Forma e grandezza del contenitore
- o Temperatura iniziale dell'alimento
- o Temperatura dell'autoclave
- o Consistenza dell'alimento, forma e dimensione dei pezzi
- o Rotazione e agitazione



# Resistenza termica di spore

La resistenza termica varia molto fra le specie, fra i ceppi e fra le diverse forme di una stessa specie.

In linea di massima le **specie più termofile** sono anche le **più termoresistenti**.

Le **endospore** sono sicuramente le forme **più resistenti**.

Cellule vegetative di batteri sporigeni non sono più resistenti di cellule vegetative di batteri non sporigeni.

Alcuni batteri asporigeni possono formare cellule specializzate (**cisti**), con parete ispessita, che possono presentare una resistenza termica maggiore delle cellule vegetative.





# Resistenza termica di lieviti e muffe

- o **Lieviti:** le cellule vegetative sono in genere distrutte a **50-58°C per 10-15 min.** Le ascospore richiedono 5-10°C in più delle cellule. I lieviti sono uccisi dalla pastorizzazione del latte e dalla cottura del pane (97°C)
- o **Muffe:** le cellule vegetative sono distrutte a **60°C per 5-10 min;** le spore asessuali richiedono 5-10°C in più. Alcune muffe (p.es. *Byssochlamys fulva*) producono ascospore resistenti



# Effetto delle condizioni di crescita sulla resistenza termica

- o **Substrato di coltura:** migliore il substrato maggiore la resistenza termica
- o **Fase di crescita:** le cellule in fase esponenziale sono più sensibili
- o **Età delle spore:** spore immature sono più sensibili; dopo è difficile generalizzare
- o **Temperatura di incubazione:** cellule e spore cresciute a temperature più alte sono più resistenti



# Adattamento allo stress da alte temperature

In generale condizioni che causano danno alle proteine (anche p.es. bassi pH) determinano una risposta allo stress termico con produzione di **Heat Shock Proteins e chaperonine**.

Alcune delle proteine prodotte in queste condizioni sono proteasi che tagliano le proteine non ripiegate correttamente.

Spesso vengono indotte anche proteine responsabili della risposta allo stress ossidativo. La regolazione del fenomeno è molto complessa ed è significativamente differente nei Gram negativi e nei Gram positivi.



# Effetto delle condizioni di trattamento sulla resistenza termica

- o **pH del substrato**: minore il pH minore la resistenza termica
- o **Umidità**: minore l' $a_w$  maggiore la resistenza termica di spore e cellule vegetative
- o **Contenuto in grasso**: maggiore è il contenuto in grasso, maggiore la resistenza termica
- o **Contenuto in proteine**: maggiore è il contenuto in proteine, maggiore la resistenza termica



# Metodi di trattamento termico degli alimenti

- o **Termizzazione:** lo scopo è distruggere le cellule vegetative di patogeni e di una parte degli agenti di deterioramento
- o **Pastorizzazione:** in genere lo scopo è il risanamento igienico, con l'inattivazione di tutte le forme vegetative dei patogeni e l'inattivazione della maggior parte degli agenti di deterioramento
- o **Cottura/scottatura:** insieme eterogeneo di trattamenti con vari scopi
- o **Sterilizzazione commerciale:** distruzione delle spore di *C. botulinum* e inattivazione delle spore dei microrganismi rilevanti per il deterioramento



# Termizzazione

- o Trattamenti termici utilizzati p.es. per il latte con combinazioni t/T°C inferiori a quelle previste per la pastorizzazione (**72°C per 15 s o 63°C per 30 min**): trattamenti tipici possono essere dell'ordine di **60-65°C per 16 s**
- o Hanno lo scopo di **inattivare almeno parte della microflora deteriorante** (psicrotrofici Gram-) **più termosensibile**: l'alimento non è stabile a temperatura ambiente ma la vita di scaffale a temperature <6°C può essere aumentata
- o Non possono assicurare il risanamento igienico anche se molti patogeni enterici vengono distrutti



# Pastorizzazione

- o Lo scopo principale è in genere **distruggere le forme vegetative dei patogeni**
- o Il trattamento termico avviene in batch o in continuo (più frequentemente) a temperature inferiori a 100°C
- o gli agenti di deterioramento e in particolare le forme sporigene possono sopravvivere, e devono essere usate barriere aggiuntive, spesso usate in combinazione:
  - Bassi pH (succhi di arancia)
  - Refrigerazione (succhi di arancia, latte)
  - Confezionamento ermetico o in atmosfere protettive (alimenti solidi e liquidi)
  - Abbassamento dell'attività dell'acqua (zucchero nel latte condensato)
  - Aggiunta di conservanti (acidulanti in conserve vegetali, nitrati in semiconserve)



## Combinazioni tempo/temperatura per la pastorizzazione di alcuni alimenti

- o **Latte:** HTST 15-16 s / 72°C; LTLT 30 min/ 63°C; UHT 2 s/138°C
- o **Crema:** HTST 15 s/74-75°C; LTLT 30 min@68°C
- o **Basi per gelati:** 30 min/71,1°C o 16-20 s/ 82,2°C
- o **Vino:** 1 min /82-85°C in bottiglia
- o **Frutta secca:** 30-90 min /65,6-85°C
- o **Succo d'uva:** flash a 80-85°C o 30 min/ 76,7°C





## Trattamenti a ca. 100°C

- o **Scottatura** di vegetali prima del congelamento
- o Trattamenti a ca. 100°C di prodotti acidi (succhi vegetali, frutti, crauti)
- o **Cottura in forno di pane e dolci** (temperature minori di 97°C all'interno)
- o **Cottura in forno di carni**: la temperatura raggiunta al centro dipende dalla grandezza del pezzo che si cuoce e va dai 60°C in carni al sangue, agli 80-85°C in carni ben cotte
- o **Frittura**: l'esterno raggiunge temperature elevate ma l'interno non raggiunge 100°C



# Trattamenti a temperature $>100^{\circ}\text{C}$

- o Confezionamento ermetico seguito da trattamento termico
- o Trattamento termico in continuo seguito da confezionamento aseptico
- o Trattamento termico in continuo seguito da confezionamento aseptico e ulteriore trattamento termico



# Trattamenti con microonde

- o Gli alimenti, confezionati o meno, vengono esposti a microonde con frequenze di 915 o 2450 MHz

## Riscaldamento ohmico

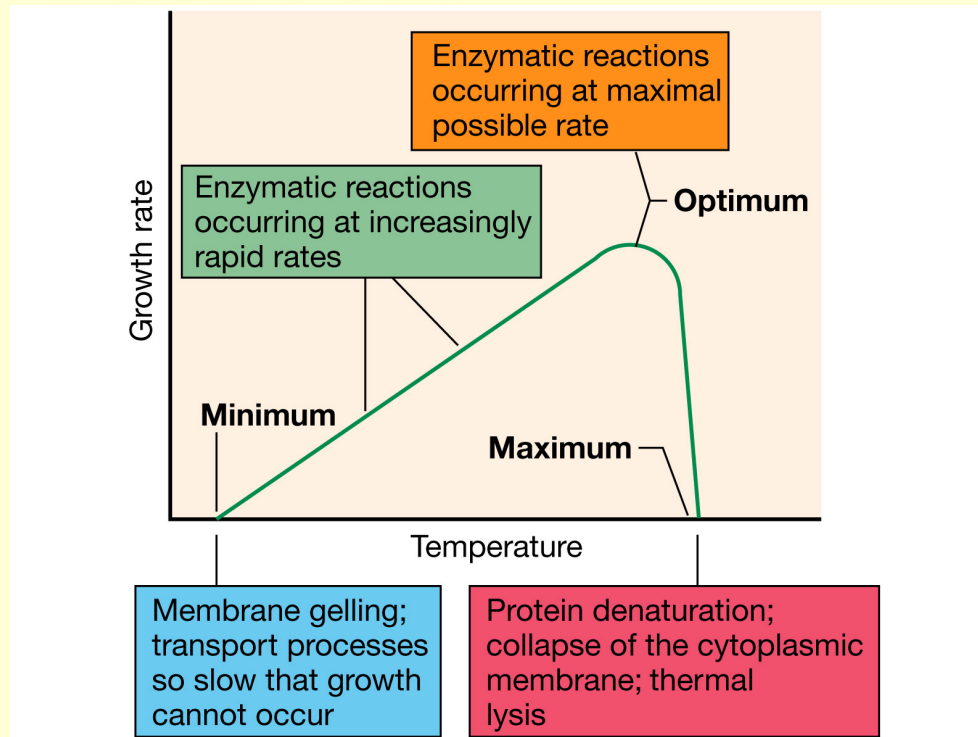
- o L'alimento viene riscaldato facendo passare attraverso di esso una corrente elettrica (utilizzando degli elettrodi) generalmente alternata
- o Il passaggio della corrente elettrica genera energia che viene dissipata sotto forma di calore: il riscaldamento avviene in un certo senso dall'interno verso l'esterno specialmente se il substrato ha caratteristiche ioniche adeguate



# Controllo dei microrganismi mediante conservazione a basse temperature



# Effetto della temperatura sui microrganismi

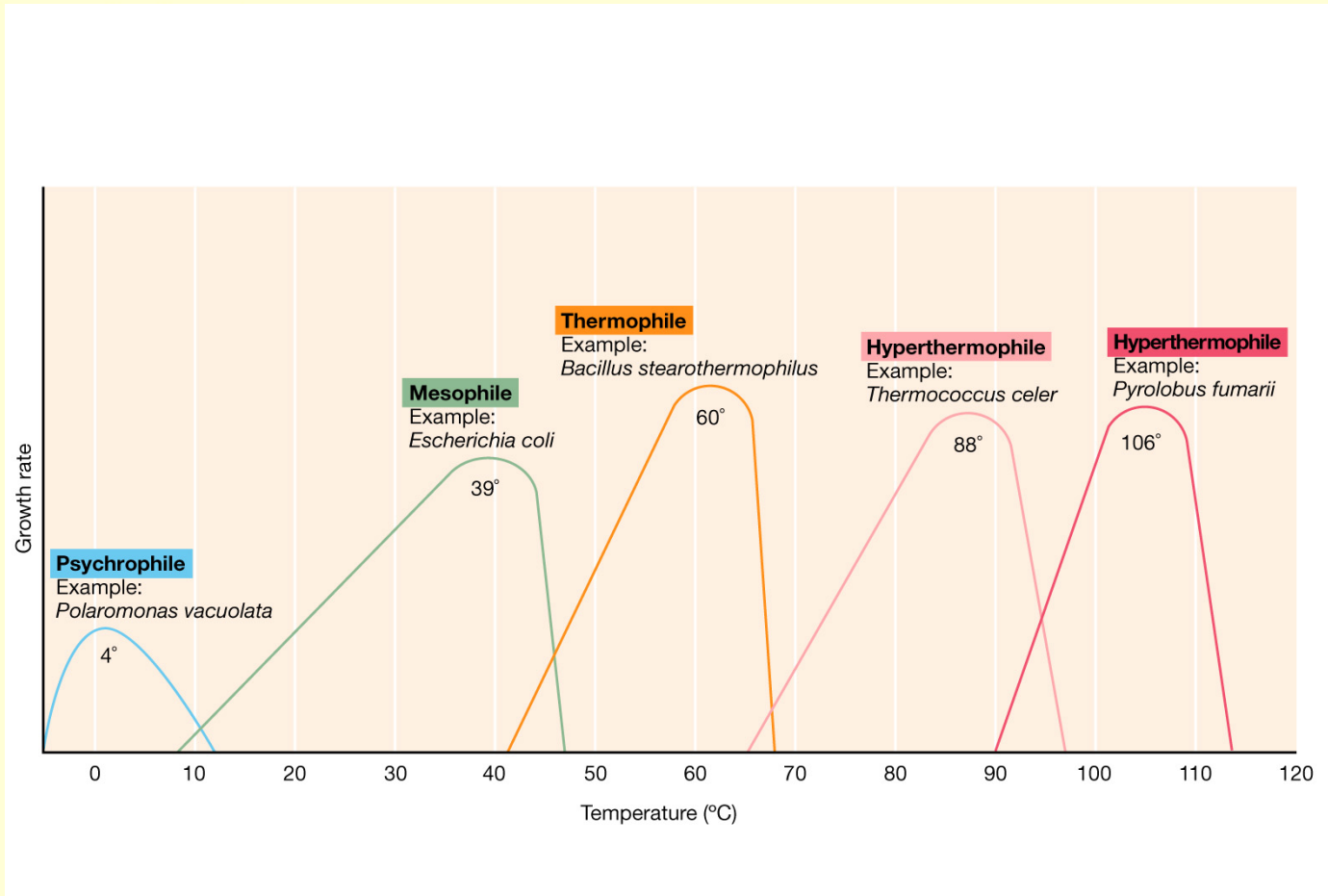


Al di sotto della **temperatura minima** i microrganismi non crescono anche se alcune reazioni enzimatiche possono continuare.

In genere il limite minimo per la crescita dipende dalla capacità dei microrganismi di adattare la composizione della membrana cellulare in termini di acidi grassi: a basse temperature aumenta la percentuale di acidi grassi insaturi o ramificati, che abbassano il punto di fusione.



# Range di temperatura per diversi gruppi di microrganismi





# Temperature cardinali (°C) di gruppi di microrganismi

<b>Gruppo</b>	<b>Minimo</b>	<b>Ottimo</b>	<b>Massimo</b>
Termofili	40-45	55-75	60-90
Mesofili	5-15	30-45	35-47
Psicrofili	-5 - +5	12-15	15-20
Psicrotrofici	-5 - +5	25-30	30-35



# Generi che includono microrganismi psicrotrofici

Batteri	Generi
Aerobi stretti	<i>Acinetobacter</i> , <i>Alcaligenes</i> , <i>Arthrobacter</i> , <i>Bacillus</i> , <i>Janthinobacterium</i> , <i>Corynebacterium</i> , <i>Flavobacterium</i> , <i>Microbacterium</i> , <i>Micrococcus</i> , <i>Moraxella</i> , <i>Pseudomonas</i> , <i>Pseudoalteromonas</i> , <i>Streptomyces</i>
Anaerobi facoltativi o anaerobi ossigeno-tolleranti	<i>Aeromonas</i> , <i>Brochothrix</i> , <i>Bacillus</i> , <i>Carnobacterium</i> , <i>Citrobacter</i> , <i>Enterobacter</i> , <i>Enterococcus</i> , <i>Erwinia</i> , <i>Escherichia</i> , <i>Klebsiella</i> , <i>Lactobacillus</i> , <i>Leuconostoc</i> , <i>Listeria</i> , <i>Proteus</i> , <i>Serratia</i> , <i>Staphylococcus</i> , <i>Vibrio</i> , <i>Yersinia</i>
Anaerobi stretti	<i>Clostridium</i>
Lieviti	<i>Candida</i> , <i>Torulopsis</i> , <i>Cryptococcus</i> , <i>Rhodotorula</i>
Muffe	<i>Penicillium</i> , <i>Cladosporium</i> , <i>Thamnidium</i> , <i>Trichotecium</i> , <i>Aspergillus</i>





## Tipi di batteri che causano deterioramento su carne di pollo

<b>Gruppo</b>	<b>% a ciascuna T°C di conservazione</b>		
	<b>1°C</b>	<b>10°C</b>	<b>15°C</b>
<i>Pseudomonas</i>	90	37	15
<i>Acinetobacter</i>	7	26	34
<i>Enterobacteriaceae</i>	3	15	27
<i>Streptococcus</i>		6	8
<i>Aeromonas</i>		4	6
Altri		12	10



# Temperature minime per la crescita di alcuni patogeni

<b>Specie</b>	<b>T°C minima per la crescita</b>
<b><i>Aeromonas hydrophila</i></b>	1 - 5
<i>Bacillus cereus</i>	7
<i>Campylobacter jejuni</i>	27
<i>Clostridium botulinum (E)</i>	3, 3
<i>Clostridium perfringens</i>	20 6 (raramente)
<i>Escherichia coli</i>	4
<b><i>Listeria monocytogenes</i></b>	3
<i>Plesiomonas shigelloides</i>	8
<i>Salmonella</i>	5, 2
<i>Staphylococcus aureus</i>	10
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	5
<b><i>Yersinia enterocolitica</i></b>	1 - 7



## Fattori che influenzano la conservazione refrigerata

- o **Temperatura:** con qualche eccezione legata a materiali vegetali, più bassa è la temperatura, più lunga la shelf-life e maggiore il costo energetico
- o **Umidità relativa:** valori troppo bassi causano calo peso, troppo alti facilitano la crescita di microrganismi, specialmente in seguito alla formazione di condensa
- o **Ventilazione:** migliora l'uniformità delle condizioni se è adeguata, influenza l'essiccamento
- o **Composizione dell'atmosfera:** aumenti dei livelli di CO<sub>2</sub> e diminuzione dei livelli di O<sub>2</sub> o conservazione sotto vuoto possono inibire gli psicrotrofici aerobi stretti



## Temperature ed umidità relative per la conservazione di alcuni prodotti vegetali

<b>Prodotto</b>	<b>Temperatura</b>	<b>RH (%)</b>
Albicocche	-0,5 – 0	85-90
Banan e	11,7-15,6	85-90
Fagiolini, peperoni	7,2	85-90
Cavoli, lattuga, carote	0	90-95
Limon i	12,8-14,4	85-90
Meloni (Cantaloupe )	4,4-10	80-85
Noci	0-2,2	65-70
Cipolle	0	70-75
Pomodori (maturi)	4,4-10	85-90



# Fasi del congelamento ed effetto sui microrganismi

- o **Abbassamento della temperatura fino al punto in cui inizia il congelamento:** i microrganismi possono essere danneggiati
- o **Ulteriore raffreddamento** fino al punto in cui il calore latente di congelamento mantiene costante la temperatura: l'acqua forma cristalli più o meno grandi che possono danneggiare le strutture dell'alimento e le cellule; la formazione di ghiaccio provoca una concentrazione delle soluzioni, con possibile danno da disidratazione
- o **Abbassamento alla temperatura finale di conservazione (-18 - -24°C):** ulteriori danni e letalità più o meno accelerata.



# Fasi del congelamento ed effetto sui microrganismi

- o A temperature inferiori a  $-18^{\circ}\text{C}$  non si ha crescita di nessun microrganismo, ma l'attività di enzimi può continuare.
  - Per questa ragione, molti prodotti vegetali vengono sottoposti ad un breve trattamento termico (**scalding**) per inattivare enzimi che potrebbero influenzare la struttura, il sapore o il colore del prodotto.
    - Questo trattamento ha anche l'effetto di ridurre significativamente (spesso  $>99\%$ ) la microflora superficiale e di determinare l'appassimento di vegetali fogliosi, migliorando le possibilità di confezionamento



# Congelamento/surgelamento

- o **Congelamento** : abbassamento della temperatura al di sotto di 0 fino a  $-40^{\circ}\text{C}$
- o **Surgelamento**: congelamento rapido che consiste nel raggiungimento di  $-18^{\circ}\text{C}$  al centro del prodotto entro 4 h e nel mantenimento a  $-18^{\circ}\text{C}$  fino alla vendita



# Scongelamento

- o I cambiamenti che si osservano dopo lo scongelamento dipendono in genere dal congelamento
- o Uno scongelamento rapido può impedire il riassorbimento dei liquidi nei tessuti animali e vegetali, con la formazione di essudati
- o La velocità dello scongelamento e la temperatura media dell'alimento durante lo scongelamento possono influenzare crescita microbica ed azione di enzimi.





# Cibi precotti congelati

- o Sono disponibili una varietà di alimenti diversi di origine animale o vegetale
- o **Il processo di cottura precongelamento è sufficiente a distruggere le cellule vegetative dei patogeni (ma non le tossine stafilococciche) e a ridurre significativamente la carica microbica banale (<math><50.000\text{ ufc/g}</math>)**
- o Dopo la precottura è importante prevenire ogni ulteriore contaminazione e congelare rapidamente per impedire ogni crescita
- o Dopo lo scongelamento devono essere consumati prontamente



## Il controllo dei microrganismi mediante bassi pH e uso di acidi organici



# Effetto del pH sui microrganismi

- o I microrganismi hanno una limitata capacità di aggiustare il pH intracellulare ( $\text{pH}_{\text{in}}$ ) in funzione di quello extracellulare ( $\text{pH}_{\text{out}}$ )
- o Al di sotto di un certo  $\text{pH}_{\text{in}}$  si ha la denaturazione di proteine intracellulari essenziali
- o  $\text{pH}_{\text{out}}$  bassi hanno effetto anche sulla conformazione e attività di lipidi e proteine strutturali della parete e della membrana e influenzano il rapporto fra forme indissociate e dissociate di acidi organici e loro esteri; le forme indissociate possono diffondere attraverso la membrana, e dissociarsi all'interno delle cellule, riducendo il  $\text{pH}_{\text{in}}$



# Classificazione degli alimenti in base al pH

- o **Cibi non acidi**  $\text{pH} > 5,3$ : la maggior parte dei microrganismi possono crescere, incluso *Clostridium botulinum*
- o **Cibi a media acidità**  $4,6 < \text{pH} < 5,3$ : *C. botulinum* può ancora crescere ma è inibito; solo pochi sporigeni sono in grado di crescere
- o **Cibi acidi**  $3,7 < \text{pH} < 4,6$ : *C. botulinum* è inibito
- o **Cibi molto acidi**  $\text{pH} < 3,7$ : solo i microrganismi più acidurici possono crescere



# Cibi alcalini e neutri

<b>Alimento</b>	<b>pH</b>	<b>Alimento</b>	<b>pH</b>
Bianco d'uovo	7,6-9,5	Gamberi	6,8-8,2
Granchio	6,8-8,0	Merluzzo, piccolo	6,7-7,1
Merluzzo, grande	6,5-6,9	Crackers	6,5-8,5
Latte	6,3-6,8	Cavoletti di Bruxelles	6,3-6,6
Melone	6,2-6,5	Datteri	6,2-6,4
Aringhe	6,1-6,6	Miele	6,0-6,8
Burro	6,1-6,4	Funghi	6,0-6,5
Cavolfiore	6,0-6,7	Lattuga	6,0-6,4



# Cibi poco acidi

<b>Alimento</b>	<b>pH</b>	<b>Alimento</b>	<b>pH</b>
Tuorlo d'uovo	6,0-6,3	Ostriche	5,9-6,6
Sedano	5,7-6,0	Piselli	5,6-6,8
Tacchino	5,6-6,0	Pollo	5,5-6,4
Fagioli	5,4-6,5	Patate	5,4-6,3
Noci	5,4-5,5	Maiale	5,3-6,4
Beef	5,3-6,2	Cipolle	5,3-5,8
Patate dolci	5,3-5,6	Cavolo	5,2-6,3
Spinaci	5,1-6,8	Asparagi	5,0-6,1
Formaggi (vari tipi)	5,0-6,1	Camembert	6,1-7,0
Pane	5,0-6,0		



# Cibi acidi

<b>Alimento</b>	<b>pH</b>	<b>Alimento</b>	<b>pH</b>
Cottage	4,1-5,4	Gouda	4,7
Carote	4,9-6,3	Succo di pomodoro	3,9-4,7
Banane	4,5-5,2	Salami stagionati	4,4-5,6
Maionese	3,8-4,0	Pomodoro	3,7-4,9
Marmellate	3,5-4,0	Albicocche	3,5-4,0
Uva	3,3-4,5	Pere	3,4-4,7
Fragole	3,0-4,2	Pompelmo	2,9-4,0
Mele	2,9-3,5	Prugne	2,8-4,6
Arance	2,8-4,0	Mirtilli	2,5-2,8
Limoni	2,2-2,4	Lime	1,8-2,0



# Valori minimi e massimi di pH per la crescita di microrganismi

TABLE 5.3

The Limits of pH Allowing Initiation of Growth by Various Microorganisms, in Laboratory Media Adjusted with Strong Acid or Alkali<sup>a</sup>

	Minimum pH	Maximum pH
Gram-negative bacteria		
<i>Acetobacter acidophilum</i> <sup>b</sup>	2.8	4.3
<i>Alcaligenes faecalis</i>	6.4	9.7
<i>Escherichia coli</i>	4.4	9.0
<i>Klebsiella pneumoniae (aerogenes)</i>	4.4	9.0
<i>Proteus vulgaris</i>	4.4	9.2
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	5.6	8.0
<i>Salmonella paratyphi</i>	4.05	7.8
<i>Salmonella schottmuelleri</i>	4.05	8.0
<i>Salmonella typhi</i>	4.0-4.5	8.0-9.6
<i>Thiobacillus thiooxidans</i>	1.0	9.8
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	4.8	11.0
Gram-positive bacteria		
<i>Bacillus cereus</i>	4.9	9.3
<i>B. subtilis</i>	4.5	8.5
<i>B. stearothermophilus</i>	5.2	9.2
<i>Clostridium botulinum</i>	4.7	8.5
<i>Clostridium sporogenes</i>	5.0	9.0
<i>Enterococcus</i> spp.	4.8	10.6
<i>Bifidobacterium bifidum (Lactobacillus bifidus)</i>	3.8	7.2
<i>Lactobacillus</i> spp.	3.8-4.4	7.2
<i>Serratia marcescens</i>	4.0	9.0
<i>Micrococcus</i> sp.	5.6	8.1
	4.0	9.8





# Valori minimi e massimi di pH per la crescita di microrganismi

<i>Staphylococcus aureus</i>	4.4-4.7	9.2
<i>Streptococcus faecium</i>	4.3-4.8	9.2
<i>Streptococcus lactis</i>	6.35	9.2
<i>Streptococcus pyogenes</i>		
Yeasts		
<i>Candida pseudotropicalis</i>	2.3	8.8
<i>Hansenula canadensis</i>	2.15	8.6
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	2.35	8.6
<i>Saccharomyces fragilis</i>	2.4	9.05
<i>Saccharomyces microellipsoides</i>	2.2	8.8
<i>Saccharomyces pastori</i>	2.1	8.8
<i>Saccharomyces exiguus</i>	1.5	—
<i>Schizosaccharomyces octosporus</i>	5.45	7.05
<i>Candida krusei</i>	1.5	—
<i>Hanseniaspora melligeri</i>	1.5	—
<i>Rhodotorula mucilaginosa</i>	1.5	—
Molds		
<i>Aspergillus oryzae</i>	1.6	9.3
<i>Penicillium italicum</i>	1.9	9.3
<i>Penicillium variable</i>	1.6	11.1
<i>Fusarium oxysporum</i>	1.8	11.1
<i>Marasmius foetidus</i>	2	6.8
<i>Phycomyces blakesleeanus</i>	3.0	7.5

<sup>a</sup> Assembled by Dr. Martyn Brown.

<sup>b</sup> Not listed, or classified *incertae sedis* in the 8th Edition of Bergey's Manual (Buchanan and Gibbons, 1974).



# pH e sopravvivenza

o Quando il pH è inferiore a quello minimo per la crescita le cellule possono:

- Sopravvivere per periodi più o meno prolungati o subire un danno subletale
- Morire più o meno rapidamente se non sono in grado di affrontare le richieste in termini di energia di mantenimento



Effetto del pH su agenti di deterioramento: batteri non sporigeni

- o **La maggior parte degli psicrotrofici Gram negativi, aerobi stretti (p.es. *Pseudomonas*), non cresce a  $\text{pH} < 5.3$**
- o Spesso i **Gram positivi sono più acido-tolleranti** dei Gram negativi
- o In bianco d'uovo i Gram negativi prevalgono per la presenza di lisozima
- o A pH acidi la resistenza termica di cellule vegetative diminuisce



## Effetto del pH su agenti di deterioramento: batteri sporigeni

- o **I bassi pH diminuiscono la resistenza termica di molte spore** e non permettono la germinazione delle spore sopravvissute
- o Bassi pH (<4,6), insieme a livelli relativamente bassi di  $a_w$  e conservanti (nitriti) possono essere usati per diminuire le esigenze di trattamenti termici per ottenere la sterilità commerciale
- o Alcuni sporigeni sono in grado di crescere a bassi pH (3-4) e quindi di deteriorare cibi acidi (che vengono in genere trattati a temperature inferiori a 100°C):
  - *Clostridium pasteurianum*
  - *Alycyclobacillus acidocaldarius*



## Effetto del pH su agenti di deterioramento: lieviti e muffe

- o **Lieviti e muffe** sono gli agenti di deterioramento più frequenti di alimenti acidi (succhi, marmellate, latti fermentati)
- o In presenza di ossigeno lieviti e muffe possono ossidare acidi organici (p.es. acido lattico in molti prodotti fermentati) permettendo la crescita di altri microrganismi meno acido-tolleranti



## Uso di bassi pH per il controllo dei microrganismi

Gli alimenti possono essere acidificati

- **Direttamente**, per aggiunta di **acidi** (generalmente organici): il tipo di acido aggiunto e il pH determinano l'intensità dell'effetto inibitorio
- **Indirettamente**, consentendo o favorendo la **fermentazione**: l'acido più frequentemente presente è l'acido lattico, anche se microrganismi eterofermentanti possono produrre quantità significative di acido acetico.



# Conservanti acidi

- o **Acidi inorganici, forti:** è necessario abbassare molto il pH perché abbiano un effetto; es. acido fosforico nei soft drinks
- o **Acidi organici, deboli:** hanno effetto anche a pH relativamente alti (acido benzoico, sorbato)
- o **Ioni potenziati dai bassi pH:** l'effetto di nitriti e solfiti è potenziato a bassi pH



# Struttura di alcuni acidi organici



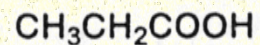
Acetic Acid



Benzoic Acid



Lactic Acid



Propionic Acid



Sorbic Acid





# Il controllo dei microrganismi per irraggiamento



# Sterilizzazione mediante radiazioni

Le microne, le radiazioni ultraviolette (UV), i raggi X, i raggi gamma (g) e gli elettroni possono ridurre la crescita microbica, in dosi e tempi appropriati:

- **i raggi UV** (220-300 nm) hanno un'energia che induce modificazioni e rotture del DNA. Sono utili per la decontaminazione di superfici e materiali che non assorbono le onde UV, come l'aria e l'acqua. Non sono in grado di penetrare superfici solide o opache o che assorbono la luce.
- **Le radiazioni ionizzanti** (provocano la formazione di ioni e specie reattive a partire da molecole con cui entrano in collisione) sono utili perché penetrano nei materiali solidi o in quelle che assorbono la luce e vengono utilizzate per la sterilizzazione e la decontaminazione in campo medico e nelle industrie alimentari.



# Alimenti irradiati

**L'irradiazione** è un **trattamento fisico** degli alimenti effettuato con radiazioni ionizzanti ad alta energia, in grado di inattivare gli enzimi degradativi presenti nell'alimento ritardandone il deterioramento e di inibire la moltiplicazione dei microrganismi.

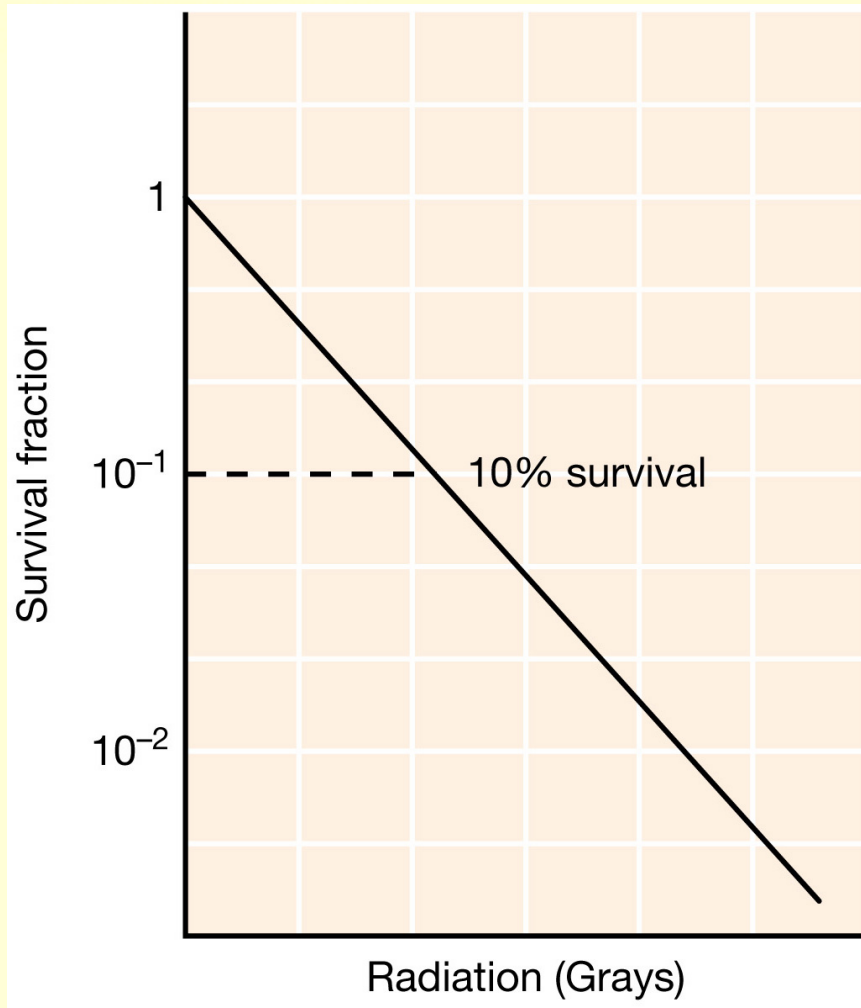
L'uso di questa tecnica in Europa è piuttosto limitato, sebbene autorizzato in molti Paesi membri, mentre risulta più ampio nei Paesi terzi.

Il trattamento è utilizzato:

- per ridurre la carica microbica nel prodotto alimentare e quindi ridurre i rischi sanitari associati con certi prodotti collegati alla presenza di microrganismi patogeni
- per prolungare la durata di conservazione dei prodotti
- per prevenire la germinazione di patate, aglio e cipolle.



# Relazione fra la dose di radiazioni (in Grays) e la sopravvivenza di microrganismi



**$D_{10}$**  è la quantità di radiazioni necessaria per ridurre di 10 volte la popolazione microbica

$$1 \text{ Gray (Gy)} = 100 \text{ rad}$$

I microrganismi sono più resistenti degli organismi multicellulari.

Es: dose letale per l'uomo è 10 Gy, per E. coli 3600 Gy.

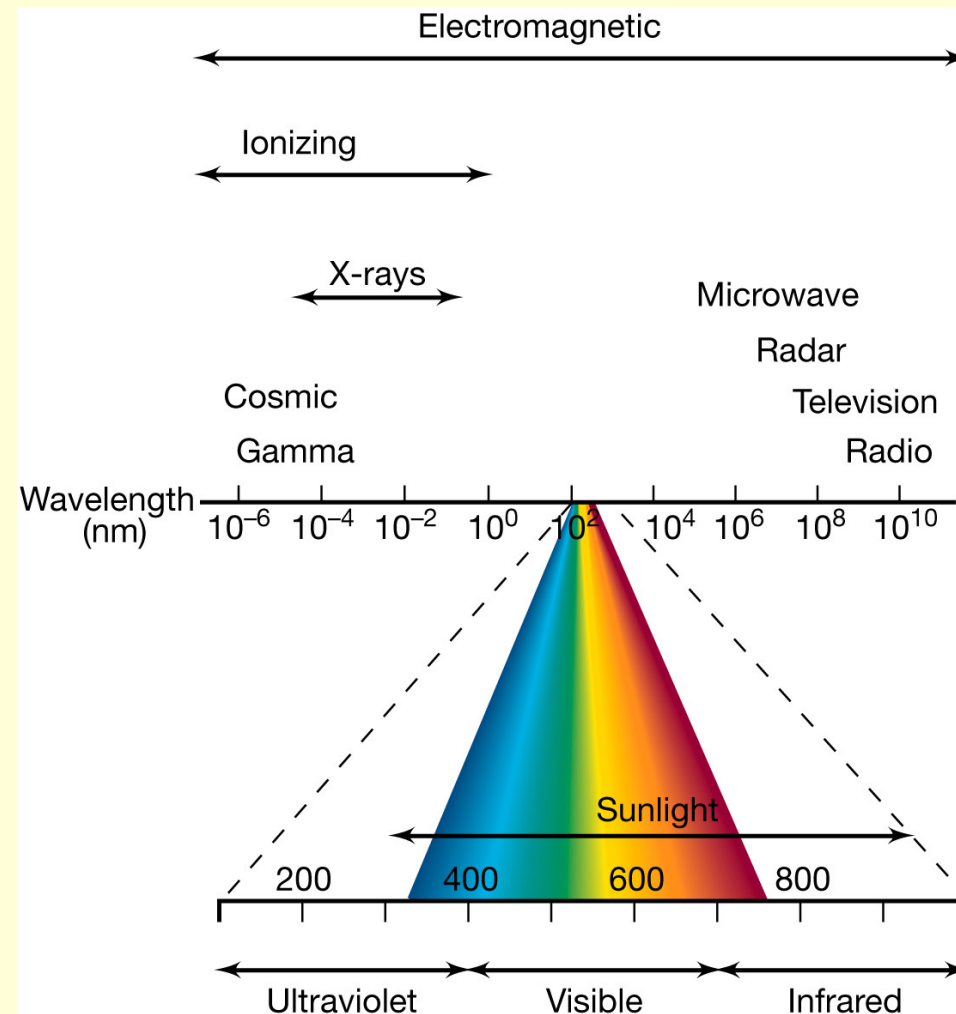


# Unità di misura

- o 1 eV : l'elettronvolt è l'energia guadagnata da un elettrone che si muove attraverso una differenza di potenziale di 1 V.  $1 \text{ MeV} = 10^6 \text{ eV}$
- o 1 rad : è una misura della radiazione assorbita ( $1 \text{ rad} = 100 \text{ erg/g}$ ). Oggi è sostituito dal Gray (Gy).  $1 \text{ Gy} = 100 \text{ rad} = 1 \text{ J/kg}$
- o 1 Ci: 1 curie =  $3,7 \times 10^{10}$  disintegrazioni/sec



# Intervalli di lunghezza d'onda per diversi tipi di radiazioni elettromagnetiche



da Madigan et al.



## Dosi di radiazioni letali per diversi gruppi di organismi

<b>Tipo di organismi</b>	<b>Dose (kGy)</b>
<b>Animali superiori e uomo</b>	<b>0,005-0,01</b>
<b>Insetti</b>	<b>0,01-1</b>
<b>Cellule vegetative di batteri e lieviti</b>	<b>0,5-10</b>
<b>Spore di batteri</b>	<b>10-50</b>
<b>Virus</b>	<b>10-200</b>

**Il livello di resistenza aumenta al diminuire della dimensione (e al diminuire della dimensione e della complessità del genoma) e complessità delle cellule oltre che al diminuire del contenuto in acqua.**



# Vantaggi dei trattamenti con radiazioni ionizzanti

- o Altamente letali, ma la dose può essere aggiustata per ottenere effetti di diversa intensità (pastorizzazione o sterilizzazione)
- o A bassi livelli (<5 kGy) non producono cambiamenti organolettici; anche a livelli più alti (>10 kGy) i cambiamenti sono in genere ridotti e non superiori a quelli causati da altri trattamenti (trattamenti termici)
- o Non producono residui di materiale non alimentare negli alimenti
- o Non c'è sviluppo di calore (si parla di pastorizzazione o sterilizzazione "fredda")
- o La penetrazione è istantanea e relativamente profonda





## Svantaggi dei trattamenti con radiazioni ionizzanti

- o **Non inattivano gli enzimi** alle dosi normali; gli enzimi devono essere inattivati in altro modo
- o Alcuni **cambiamenti chimici**, specialmente quelli associati con la presenza di radicali liberi (p.es. ossidazione dei grassi), sebbene limitati, possono essere inaccettabili
- o Esiste una certa **diffidenza** da parte dei consumatori, anche se è ormai dimostrato che alle dosi normali non vengono prodotte sostanze pericolose negli alimenti
- o Le radiazioni ionizzanti sono **pericolose per l'uomo** e richiedono l'uso di norme di sicurezza stringenti



## I dubbi sull'uso delle radiazioni per la conservazione degli alimenti

L'irraggiamento rende radioattivi gli alimenti	<b>Falso:</b> nessuna radioattività ai livelli di energia attualmente permessi per fasci di elettroni e $^{60}\text{Co}$
L'irraggiamento determina la produzione di composti radiolitici pericolosi	<b>Falso:</b> alle dosi tecnologiche la quantità di composti radiolitici è minima e non è mai stata dimostrata tossicità, cancerogenicità o mutagenicità di alimenti irradiati
L'irraggiamento riduce il valore nutrizionale degli alimenti	L'irraggiamento a 10-45 kGy non ha un effetto superiore ai trattamenti termici che conseguono riduzioni analoghe dei microrganismi



## I dubbi sull'uso delle radiazioni per la conservazione degli alimenti

L'irraggiamento può determinare l'accumulo di mutanti pericolosi	<b>Falso:</b> non si è mai verificato finora l'isolamento di mutanti più resistenti o virulenti
L'irraggiamento può permettere la commercializzazione di cibi deteriorati o ridurre la necessità di GMP	<b>Falso:</b> l'irraggiamento non migliora le caratteristiche sensoriali e adeguate norme di igiene e di produzione sono comunque necessarie
In cibi irradiati la crescita di patogeni e la produzione di tossine può verificarsi prima del deterioramento	Purtroppo questo è possibile in alcune (anche se rare) situazioni



# Radura: il logo degli alimenti irraggiati





# Raggi UV

- o Hanno effetto germicida le radiazioni fra 240 e 280 nm (opt 253,7 nm)
- o Sono prodotte da lampade di varia potenza, a vapori di mercurio
- o Danneggiano il DNA causando la formazione di dimeri di timina che possono essere rimossi dai sistemi di riparazione
- o Sono poco penetranti e sono utilizzati per la sanificazione di aria e superfici



## Resistenza agli UV di alcuni gruppi di microrganismi

<b>Microrganismi</b>	<b>Dose per 1 riduzione decimale (W sec)</b>
<b>Batteri Gram-negativi</b>	
<b>Anaereobi facoltativi</b>	<b>0,8-6,4</b>
<b>Aerobi</b>	<b>3,0-5,5</b>
<b>Fototrofi</b>	<b>5,0-6,0</b>
<b>Batteri Gram-positivi</b>	
<b><i>Bacillus</i></b>	<b>5,0-8,0</b>
<b>Spore di <i>Bacillus</i></b>	<b>8,0-10,0</b>
<b><i>Micrococcus</i></b>	<b>6,0-20,0</b>
<b><i>Staphylococcus</i></b>	<b>2,2-5,0</b>
<b>Muffe</b>	<b>10,0-200,0</b>
<b>Lieviti</b>	<b>3,0-10,0</b>

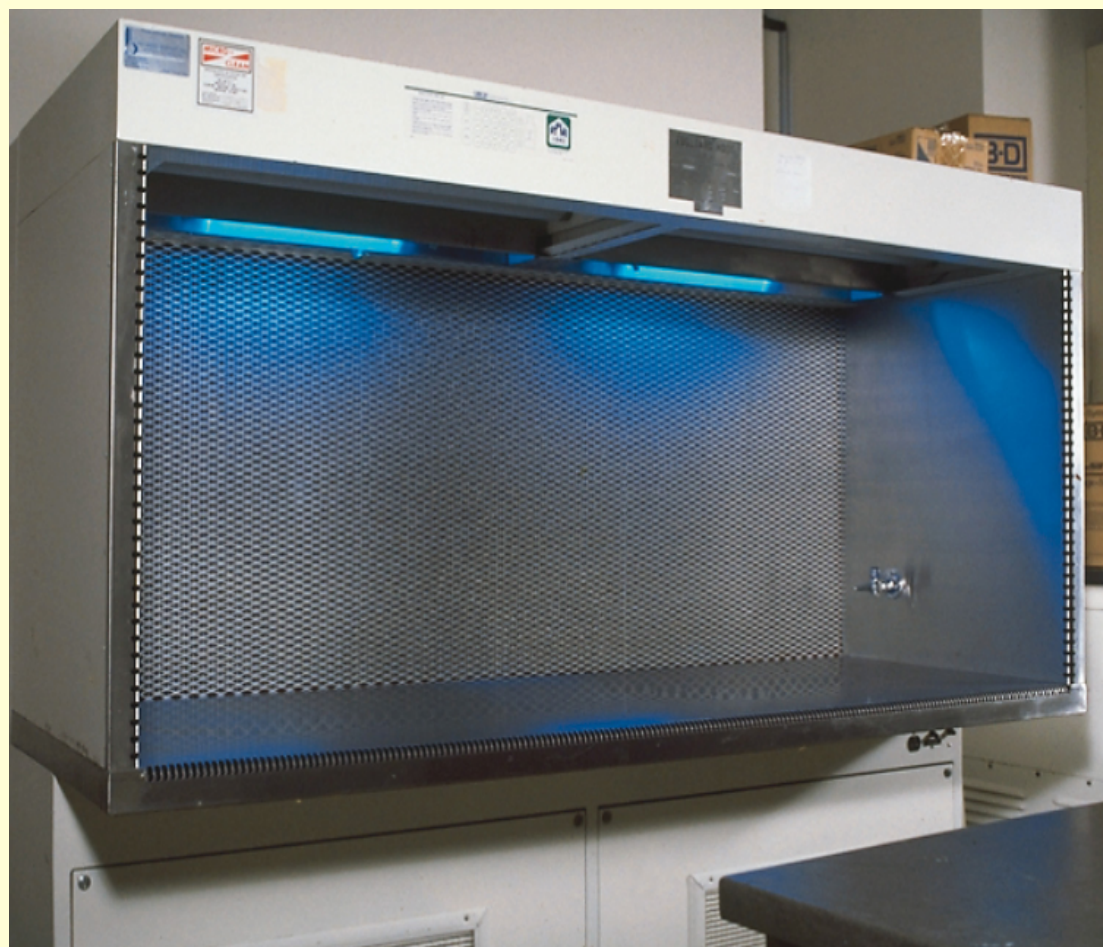


# Applicazioni dei raggi UV

- o Confezionamento aseptico (disinfezione di contenitori in combinazione con  $H_2O_2$ )
- o Disinfezione di superfici
- o Trattamento dell'aria in impianti di confezionamento, impianti per la maturazione di salumi e formaggi, etc.



## Una cappa a flusso laminare: un esempio di uso di UV per la decontaminazione di superfici



da Madigan et al.





Effetto dell'attività dell'acqua e controllo  
dei microrganismi per disidratazione e  
aggiunta di soluti



# Definizione di attività dell'acqua

L'attività dell'acqua ( $a_w$ ) per un alimento o per una soluzione è il rapporto fra la pressione parziale di vapore dell'alimento o soluzione con quella del solvente puro (acqua):

$$a_w = p/p_0$$



# Adattamento allo stress da basse $a_w$

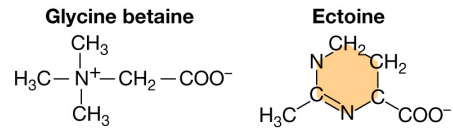
**La bassa attività dell'acqua causa riduzione del turgore cellulare** (necessario per la crescita della cellula) **fino al distacco della membrana dalla parete** (plasmolisi) **per fuoriuscita di acqua.**

Le cellule rispondono alla riduzione dell'attività dell'acqua nell'ambiente esterno accumulando **soliti biocompatibili** (sintetizzandoli o importandoli mediante trasporto attivo dall'ambiente circostante).

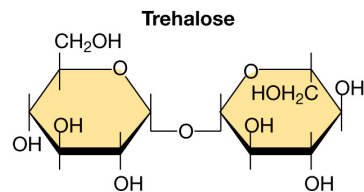
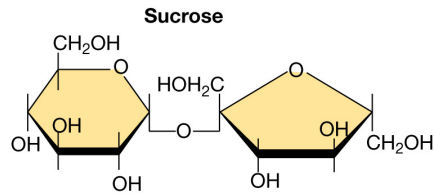


# Alcuni soluti biocompatibili

## 1. Amino acid-type solutes:

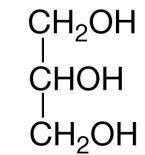


## 2. Carbohydrate-type solutes:

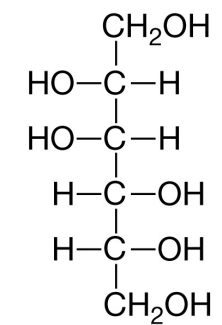


## 3. Alcohol-type solutes:

### Glycerol

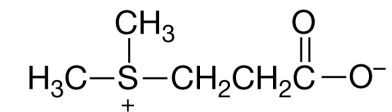


### Mannitol



## 4. Other:

### Dimethylsulfoniopropionate:





## Minimi di $a_w$ per la crescita: riassunto

Gruppo di microrganismi	$a_w$ minima per la crescita
Batteri (la maggior parte)	0,88-0,91
Lieviti (la maggior parte)	0,88
Muffe (la maggior parte)	0,80
Batteri alofili	0,75
Muffe xerotolleranti	0,71
Muffe xerofile e lieviti osmofili	0,60-0,62



# Valori di $a_w$ per alcuni alimenti

<b>Alimento</b>	<b><math>a_w</math></b>	<b>Alimento</b>	<b><math>a_w</math></b>
Frutti e ortaggi freschi	0,97-1,00	Marmellata	0,75-0,80
Pollame o pesce fresco	0,98-1,00	Gelatine	0,92-0,94
Carni fresche	0,95-1,00	Riso	0,80-0,87
Uova	0,97	Succhi di frutta e ortaggi	0,97
Farina	0,67-0,87	Pane	0,96
Melassa	0,76	Mollica	0,94-0,97
Miele	0,54-0,75	Crosta	0,30
Frutta secca	0,55-0,80		
Formaggi (la maggior parte)	0,95-1,00	Cioccolattini	0,69
Parmigiano	0,68-0,76	Caramello	0,60-0,65
Carni curate	0,87-0,95	Fettuccine all'uovo	0,50
Dolci (cotti in forno)	0,90-0,94	Uovo essiccato	0,40
Pasta per biscotti refrigerata	0,94	Biscotti	0,30
Sciroppo d'acero	0,90	Latte intero in polvere	0,20
Tuorlo d'uovo salato	0,90	Vegetali disidratati	0,20
Cibi per animali umidi	0,83	Cereali	0,10-0,20
Zucchero	0,19		



# Effetto dell' $a_w$ sul deterioramento e sui patogeni

Range di $a_w$	Deterioranti	Patogeni
> 0,98	Possono crescere tutti i principali agenti di deterioramento, inclusi i più sensibili ( <i>Pseudomonas</i> , <i>Enterobacteriaceae</i> ), anche se i più sensibili sono già significativamente inibiti a $a_w=0,98$	Possono crescere tutti i patogeni, tranne quelli alofili ( <i>V. parahaemolyticus</i> ). <i>S. aureus</i> è poco competitivo in queste condizioni



# Effetto dell' $a_w$ sul deterioramento e sui patogeni

Range di $a_w$	Deterioranti	Patogeni
0,93-0,98	il deterioramento è causato da Gram + (fermenti lattici, microstafilococchi, coliformi alotolleranti); in prodotti in scatola, in combinazione con conservanti è possibile ridurre i trattamenti termici perché la germinazione di spore è inibita	I patogeni sono inibiti, specialmente se altri fattori sono subottimali. Al di sotto di 0,96 soltanto <i>S. aureus</i> può rappresentare un problema sostanziale. E' possibile la produzione di micotossine





## Effetto dell' $a_w$ sul deterioramento e sui patogeni

Range di $a_w$	Deterioranti	Patogeni
0,85-0,93	Sono rilevanti soltanto micrococchi, muffe e lieviti. Le muffe hanno importanza soprattutto nei prodotti da forno in questo range	Solo <i>S. aureus</i> può rappresentare un problema, ma non produce tossine in alimenti ad $a_w < 0,93$ . In alimenti ad umidità intermedia (0,85 $a_w$ ) non rappresenta un pericolo



## Effetto dell' $a_w$ sul deterioramento e sui patogeni

Range di $a_w$	Deterioranti	Patogeni
0,60-0,85	Sono rilevanti soltanto lieviti osmofili e muffe xerofile, in particolare per marmellate. In alcuni casi si può osservare crescita locale anche in alimenti più secchi	E' rilevante solo la sopravvivenza. Possono crescere muffe xerofile ma non è nota la produzione di micotossine



# Controllo dell' $a_w$

L' $a_w$  degli alimenti può essere controllata per

- **Aggiunta di soluti** (NaCl, saccarosio, glucosio)
- **Disidratazione**

Spesso le basse  $a_w$  vengono usate insieme ad altri fattori inibitori in un approccio basato sulle hurdles (ostacoli)



## Contenuto in umidità di vari cibi secchi o disidratati con $a_w=0,70$ a $20^\circ\text{C}$

<b>Cibo</b>	<b>Umidità (%)</b>
Cariossidi di cereali	4-9
Latte intero in polvere	7-10
Cacao in polvere	7-10
Uova intere in polvere	10-11
Latte magro in polvere	10-15
Carne magra essiccata	10-15
Riso e semi di leguminose	12-15
Vegetali disidratati	12-22
Zuppe disidratate	13-21
Frutta secca	18-25



# Umidità di alcuni cibi prima e dopo la disidratazione

Cibo	Umidità (%)	
	Prima	Dopo
Latte intero	87	5,0
Latte magro	90	5,0
Uova intere	74	2,9
Albume	88	7,3
Tuorlo	51	1,1
Carne bovina magra	60	1,5
Pollo, arrostito	61	1,6
Mais dolce, cotto	76	3,2
Patate, bollite	80	4,0
Succo di mela	86	6,2
Fichi	78	3,6
Prezzemolo	84	5,3



# Concentrazione, essiccazione

- o concentrazione di alimenti liquidi: 2-3 volte con vari meccanismi (tecnologie a membrana, evaporatori)
- o essiccazione parziale di alimenti fermentati, come formaggi e salumi (in celle climatiche), ad  $a_w$  comprese fra 0,8 e 0,9 e umidità fra il 35% e il 50%
- o essiccazione di alimenti liquidi e solidi a umidità fra 5 e 15% e  $a_w < 0,7$  con mezzi naturali o meccanici



# Spray drying

- o L'alimento, preconcentrato e preriscaldato viene spruzzato o atomizzato in un contenitore in cocorrente o in controcorrente con aria calda e secca
- o Anche se la temperatura dell'aria può essere molto alta, la temperatura dell'alimento resta bassa (spesso  $<50^{\circ}\text{C}$ ) per raffreddamento evaporativo



# Liofilizzazione

- o L'acqua viene rimossa per sublimazione, non per evaporazione
- o L'alimento viene posto su vassoi, o in contenitori, congelato e sottoposto ad alto vuoto (5-10 Pa)
- o Durante il processo, la rimozione del calore latente di sublimazione mantiene il prodotto congelato
- o Il fronte di sublimazione penetra nell'alimento e non si ha migrazione sostanziale di soluti





# Effetto sui microrganismi durante l'essiccazione

- o In alcuni processi (evaporatori sotto vuoto, spray-drying, essiccazione a letto fluidizzato) la temperatura del prodotto è relativamente bassa e vengono uccisi solo i microrganismi meno resistenti
- o In altri processi la temperatura aumenta man mano che il prodotto si essicca: l'effetto letale aumenta ma può essere compensato dall'incremento di resistenza dovuto all'essiccamento; in genere vengono uccise forme vegetative di batteri, lieviti e muffe



# Effetto sui microrganismi dopo l'essiccazione

- o Se si previene la riumidificazione l' $a_w$  è troppo bassa per la crescita nella maggior parte dei prodotti;
- o Molti microrganismi, inclusi i patogeni, possono sopravvivere a lungo nei cibi disidratati;
- o Per alcuni prodotti (frutta, uova) si può applicare un processo di pastorizzazione dopo l'essiccazione;
- o Condensazione, gradienti di umidità, possono permettere crescite locali di microrganismi osmofili o xerofili
- o La reidratazione di alimenti liofilizzati da consumare cotti andrebbe fatta ad alta temperatura (95-100°C) per distruggere gli eventuali patogeni sopravvissuti



# Cibi ad umidità intermedia

- o Umidità 20-40%, stabili a temperatura ambiente per una combinazione di bassa  $a_w$  (0,75-0,85), pastorizzazione, confezionamento, uso di inibitori di muffe e lieviti
  - $a_w < 0,85$  inibiscono praticamente tutti i patogeni
  - La germinazione di spore è inibita
  - I batteri in grado di crescere a  $a_w < 0,85$  sono distrutti dalla pastorizzazione o, se sopravvivono crescono molto lentamente
  - Muffe e lieviti sono inibiti con conservanti (acido sorbico, sorbati)



# Il sale (NaCl) come conservante

- o È probabilmente il conservante più antico
- o Non è considerato un additivo
- o L'effetto è prevalentemente legato alla riduzione di  $a_w$  ma può avere un effetto più inibitorio di altri umettanti, con plasmolisi, sensibilizzazione delle cellule verso la  $CO_2$ , interferenza con enzimi proteolitici)
- o Generalmente usato in combinazione con altri fattori (pH, conservanti, fermentazioni, blandi trattamenti termici...)



# Il sale come conservante

- o 0,9-1,7%:  $a_w$  0,995-0,990. Può agire inibendo parzialmente Gram - sensibili e favorire la crescita di microrganismi utili, come fermenti lattici
- o 3,4-9,4%:  $a_w$  0,94-0,98. La maggior parte dei patogeni sono inibiti. Crescono solo microrganismi alotolleranti.
- o 12-16%:  $a_w$  0,92-0,88. Crescono solo alofili e alotolleranti



# Concentrazioni di NaCl inibitorie per alcuni microrganismi

**TABLE 8.3**

**Concentrations of Sodium Chloride Inhibitory to Foodborne Organisms**

Species	Number of strains examined	Inhibitory concentration of NaCl (%)
<i>Clostridium botulinum</i> types A and B	45	>6.0 <sup>a</sup>
(proteolytic)	11	<6.0 <sup>a</sup>
<i>Clostridium botulinum</i> types A and B	7	<10.5 <sup>b</sup>
<i>Clostridium botulinum</i> type E and nonproteolytic type B	70	ca <4.5 <sup>a</sup>
<i>Clostridium perfringens</i>	18	>4.0–<8.0 <sup>c</sup>
<i>Clostridium putrificum</i>	2	4.9– 10.5 <sup>b</sup>
<i>Clostridium sporogenes</i>	3	8.7– 9.5 <sup>b</sup>
<i>Staphylococcus aureus</i>	—	16– 18 <sup>d</sup>
<i>Salmonella</i> sp.	—	8 <sup>d</sup>

<sup>a</sup> Data from Baird-Parker and Baillie (1973).

<sup>b</sup> Data from Tanner and Evans (1933).

<sup>c</sup> Data from Gough and Alford (1965).

<sup>d</sup> Data from Genigeorgis (1976).

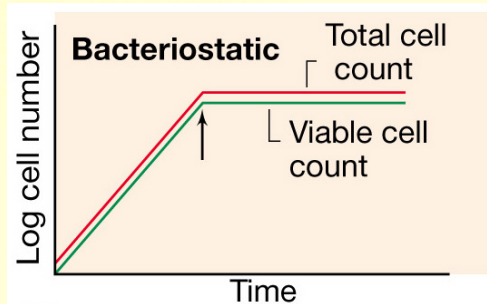


# Zuccheri

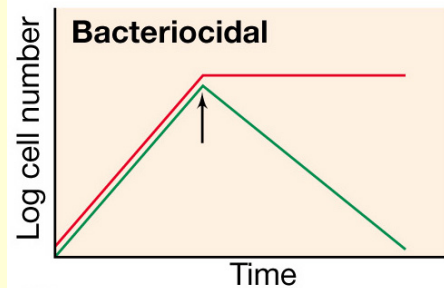
- o Anche gli zuccheri non sono considerati conservanti e possono essere aggiunti alla concentrazione desiderata
- o Vengono utilizzati in
  - Marmellate e confetture
  - Latte condensato
  - Sciroppi
  - Mix per dolci e gelati
  - Etc.



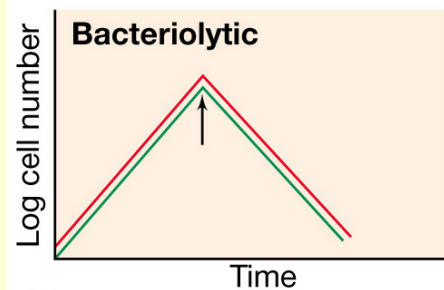
# Agenti antimicrobici



(a)



(b)



(c)

**Battericida:** agente chimico naturale o di sintesi che uccide i microrganismi

**Batteriostatico:** inibiscono la crescita

**Batteriolitico:** inducono la lisi dell'organismo