

**ZANICHELLI**

Fabio Fanti

# Biologia, microbiologia e tecnologie di controllo sanitario

Prodotti ottenuti  
da processi  
biotecnologici

Produzioni  
biotecnologiche alimentari

# L'impiego delle biomasse microbiche

Le **biomasse microbiche** sono colture di microrganismi che costituiscono esse stesse il prodotto del processo biotecnologico.

Sono ottenute per essere utilizzate come tali:

- **in funzione del loro contenuto:** come fonte di proteine e vitamine nell'alimentazione e per l'estrazione di componenti chimici (enzimi, vitamine, acidi nucleici e lipidi)
- **in funzione della loro attività:** come colture selezionate e starter nella produzione del pane, delle bevande alcoliche, nel disinquinamento ambientale e come colture insetticide

# I microrganismi unicellulari SCP

Il termine **SCP** (*single cell proteins*) indica microrganismi unicellulari impiegati come fonte proteica.

Il loro impiego riguarda soprattutto l'integrazione proteica nell'alimentazione umana e animale.

Si possono ottenere a partire da:

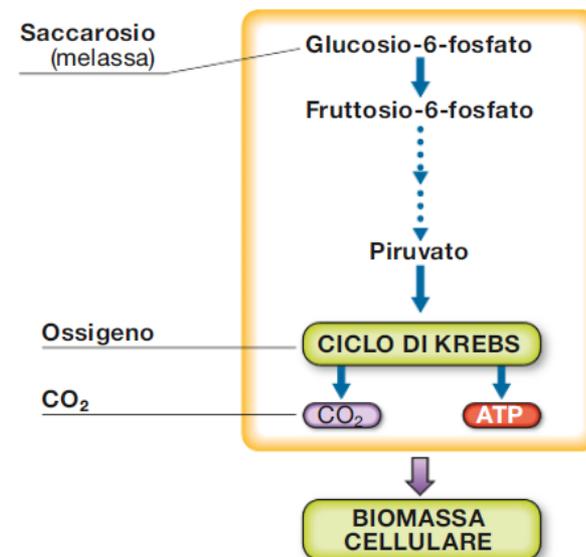
- Batteri
- Lieviti
- Muffe
- Cianobatteri e alghe

# *Saccharomyces cerevisiae* per la panificazione

Il microrganismo usato per la **panificazione** è il lievito *Saccharomyces cerevisiae*.

Il metabolismo ossidativo del lievito porta alla produzione di biomassa che è utilizzata per ottenere la lievitazione naturale dell'impasto di farina e acqua, con produzione di CO<sub>2</sub> (ed etanolo che evapora durante la cottura).

La sua produzione avviene in più stadi, di cui i primi sono in condizioni di semianaerobiosi (per non deprimere la capacità fermentativa per repressione degli enzimi responsabili) e gli ultimi di aerobiosi.

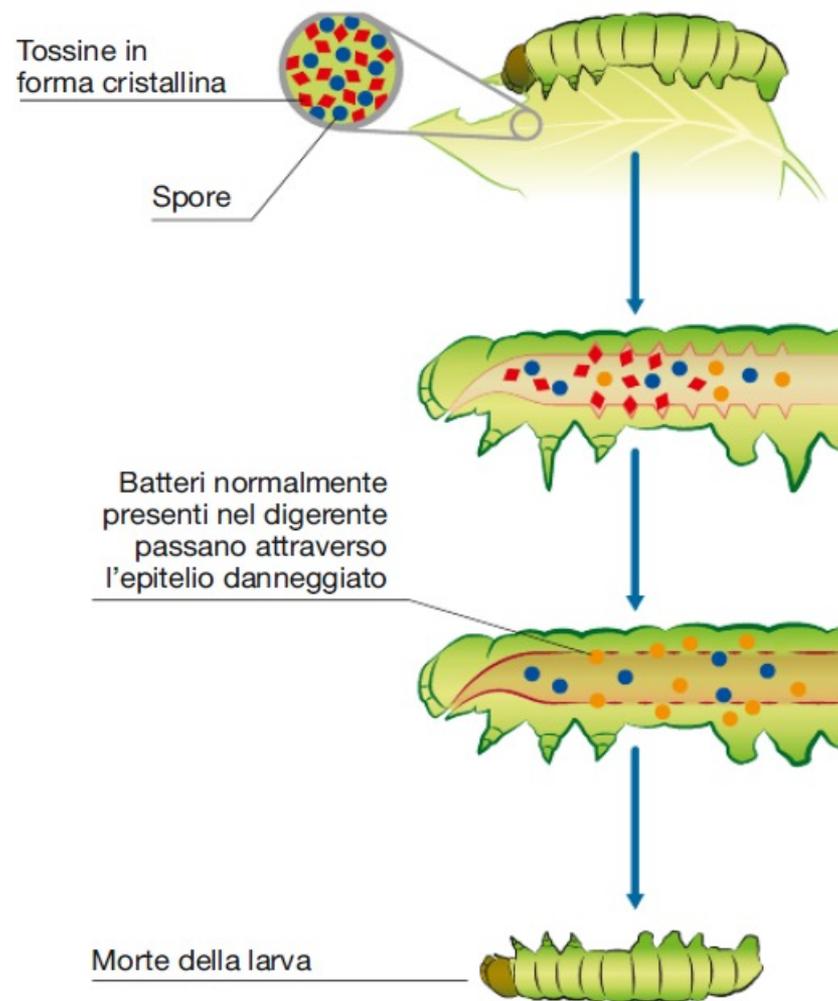


# Colture insetticide da *Bacillus*

I **pesticidi** o **fitofarmaci** sono molecole usate in agricoltura per il controllo e l'eliminazione dei parassiti dannosi.

Sono impiegate tossine ottenute da specie di *Bacillus* e colture di *Bacillus thuringiensis*.

I geni plasmidici che codificano per la tossina, detti **geni cry**, possono essere clonati in batteri naturalmente presenti nei vegetali.

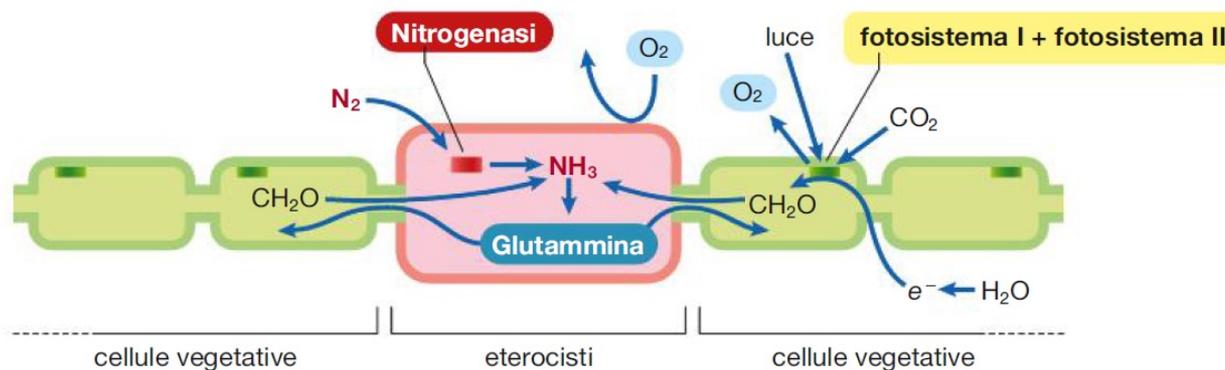
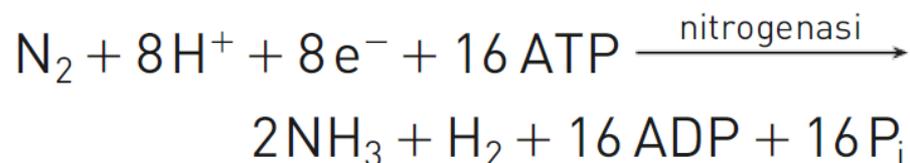


Meccanismo d'azione della  $\delta$ -endotossina di *Bacillus thuringiensis*.

# Colture dell'azotofissatore *Rhizobium*

*Rhizobium* è un batterio endosimbionte delle radici delle leguminose in grado di fissare l'azoto atmosferico rendendolo disponibile per la pianta, che a sua volta fornisce al batterio carbonio e altri nutrienti.

Reazione di **fissazione dell'azoto** catalizzata dall'enzima **nitrogenasi**:

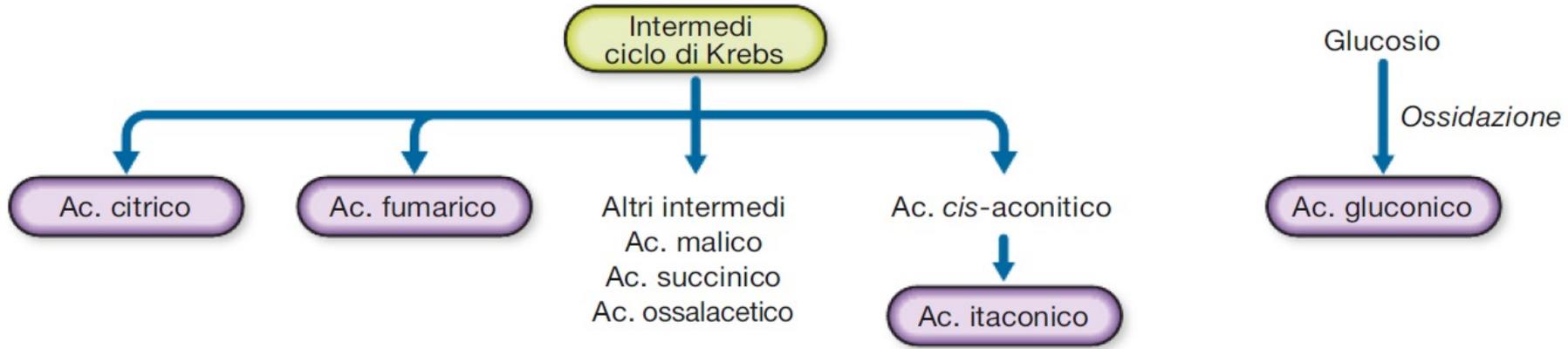


**Funzionamento della nitrogenasi nei cianobatteri.**

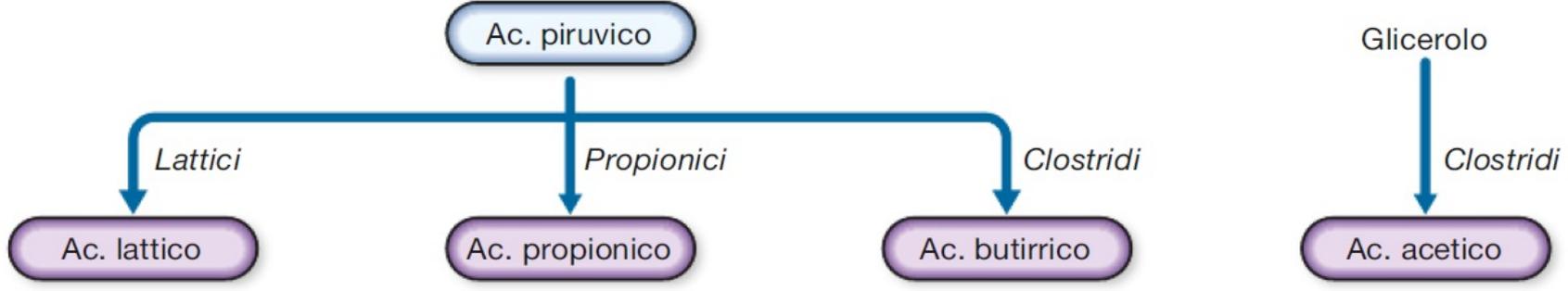
# La produzione di acidi organici

Le vie di produzione di **acidi organici** nel **metabolismo aerobico e anaerobico**:

Acidi organici ottenibili dal metabolismo **AEROBICO**

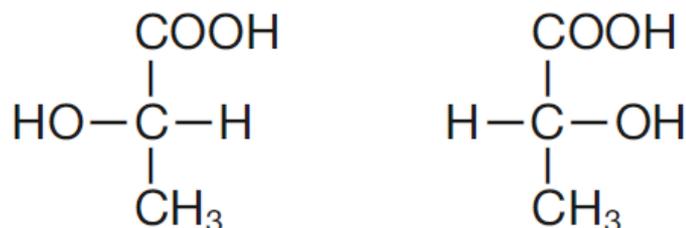


Acidi organici ottenibili dal metabolismo **ANAEROBICO**

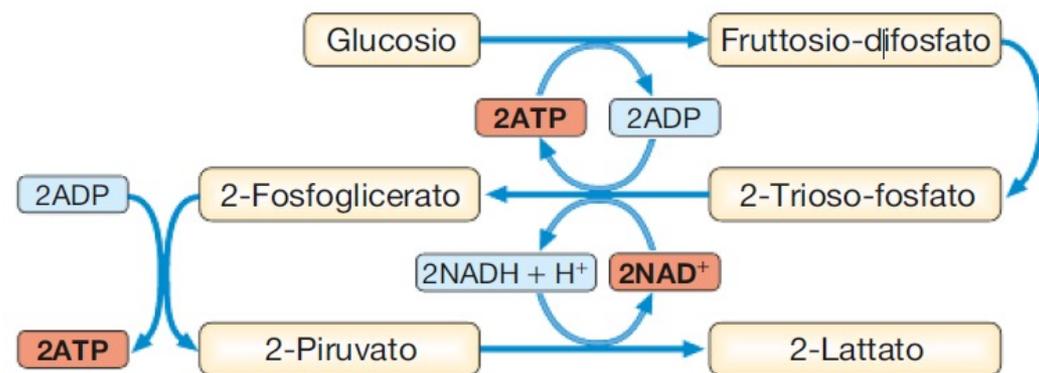


# La fermentazione anaerobica

L'**acido lattico** è prodotto nella forma L(+), quella che si trova nei muscoli ed è detta anche acido sarcolattico, nella forma D(-) e in miscela racemica.



Acido lattico nella forma L(+) e nella forma D(-).



Schema della fermentazione lattica.

La produzione avviene impiegando batteri lattici omofermentanti, che convertono il glucosio in acido piruvico nella glicolisi. Il microrganismo più usato è il *Lactobacillus delbrueckii*.

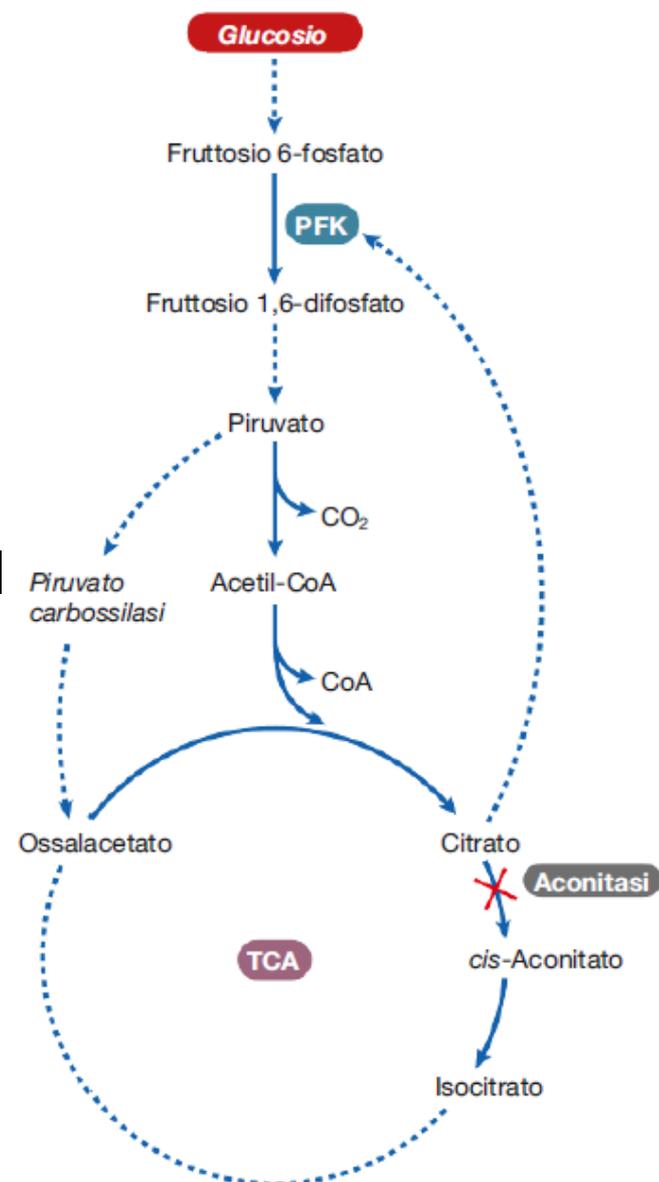
L'acido lattico è usato per la sintesi di polimeri biodegradabili come bioplastiche o biopolimeri, che sostituiscono i materiali di origine petrolchimica.

# La fermentazione aerobica /1

## Acido citrico:

il microrganismo maggiormente usato per la sua produzione è la muffa *Aspergillus niger*, impiegando come substrati il saccarosio da melassa di barbabietola e il glucosio da amido di mais.

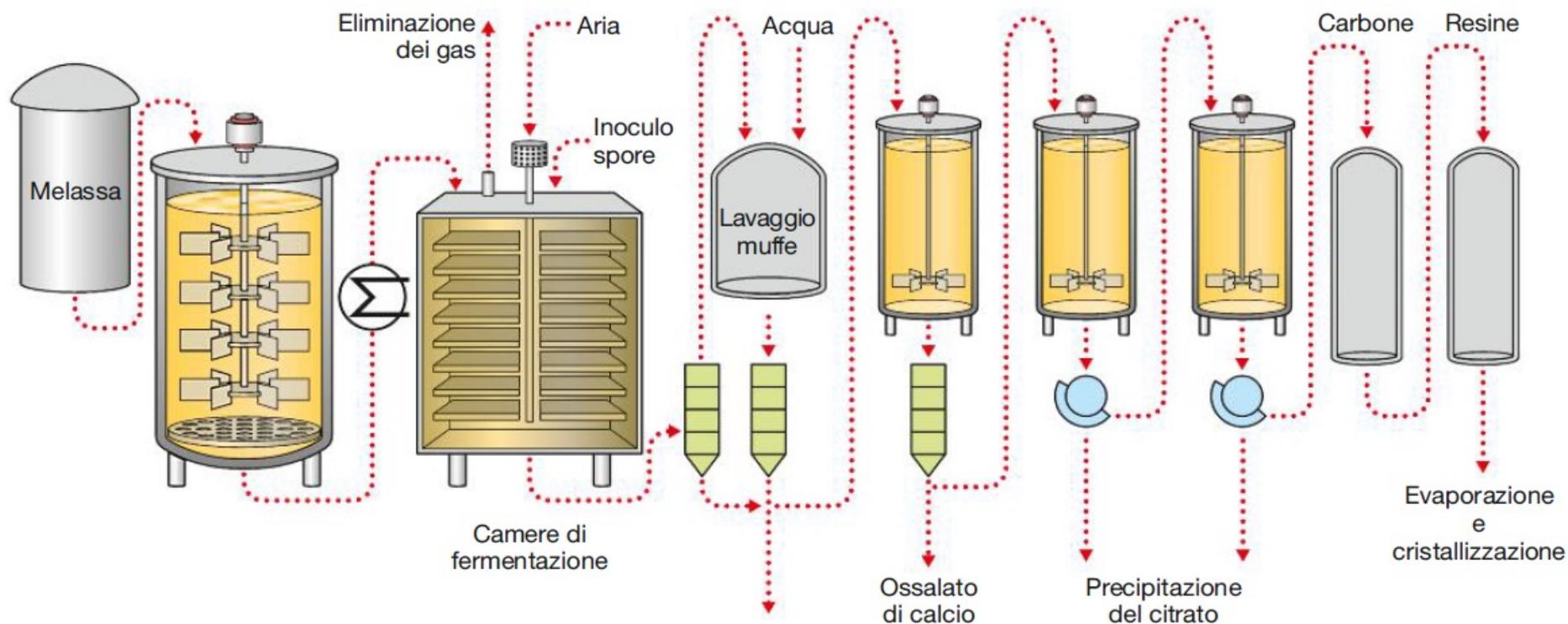
È un metabolita intermedio del **ciclo di Krebs**, quindi non si accumula spontaneamente come prodotto finale. Occorre intervenire bloccando l'azione dell'enzima **aconitasi**, che agisce a valle dell'acido citrico, trasformandolo in acido cis-aconitico.



Ciclo di Krebs.

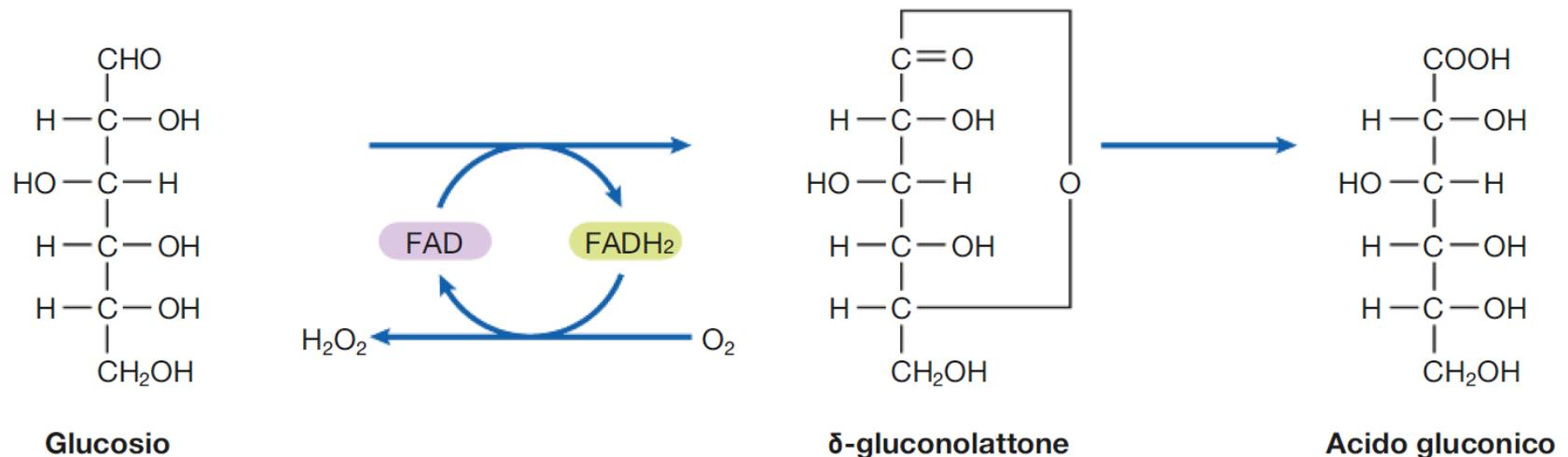
# La fermentazione aerobica /2

Schema di un **impianto per la produzione di acido citrico**:



# L'acido gluconico

L'**acido gluconico** è prodotto usando la muffa *Aspergillus niger* o il batterio *Gluconobacter suboxydans* e glucosio come substrato. Si tratta di una bioconversione per ossidazione diretta del glucosio, che avviene in due fasi: da glucosio a  $\delta$ -gluconolattone e quindi ad acido gluconico.



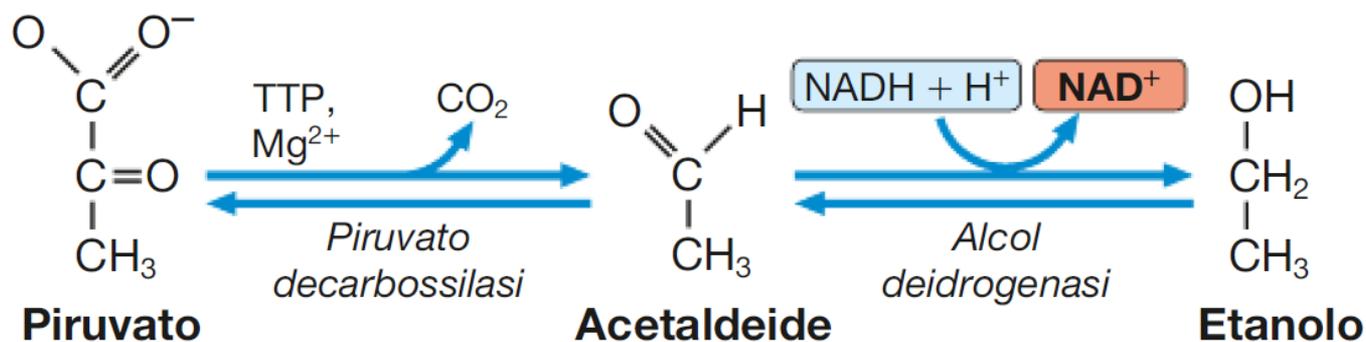
**Bioconversione per ossidazione diretta del glucosio, con cui si ottiene acido gluconico.**

# L'etanolo

L'**etanolo** si ottiene sia per via chimica che fermentativa.

La **fermentazione alcolica** si realizza partendo da materie prime contenenti zuccheri anche complessi, previa idrolisi.

Molti microrganismi sono in grado di produrre alcol etilico da substrati zuccherini, amidi e scarti della lavorazione del legno e della cellulosa. I più utilizzati sono i lieviti *Saccharomyces cerevisiae*, *S. carlbergensis*, *S. elipsoideus* e batteri come *Zymomonas mobilis* (anaerobio facoltativo, Gram negativo).



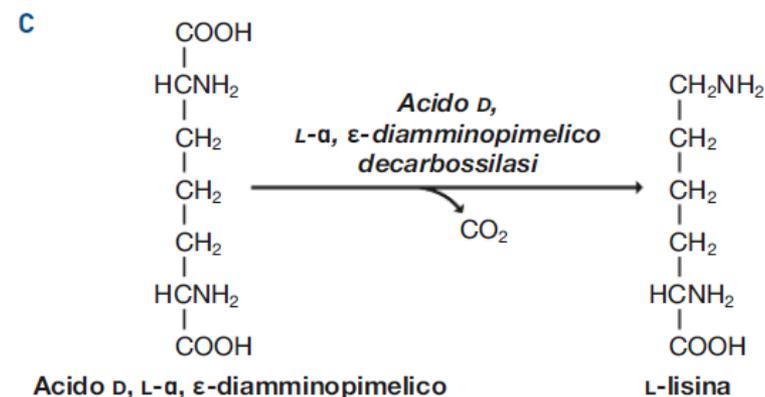
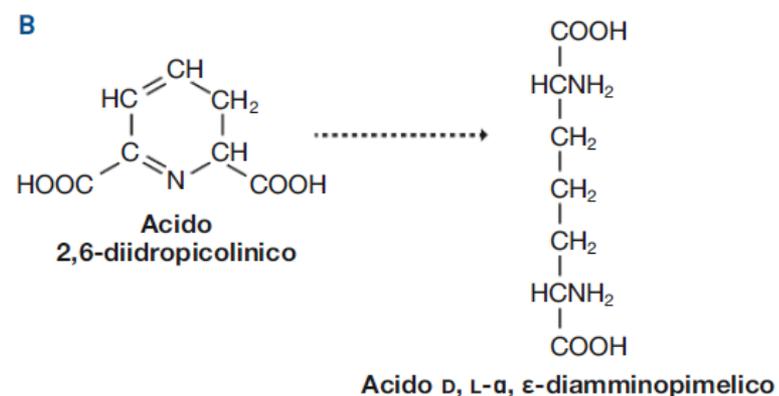
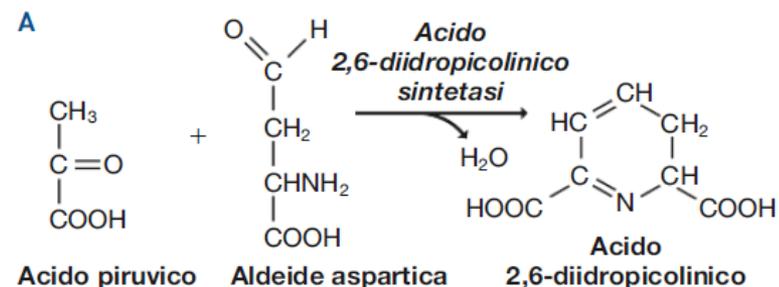
**Fermentazione alcolica:** sono riportati i passaggi finali, da piruvato a etanolo, della fermentazione alcolica.

# Gli aminoacidi

Gli **aminoacidi** si ottengono per: idrolisi dalle proteine, sintesi chimica, fermentazione e bioconversione enzimatica.

La microbiologia industriale si è concentrata nella produzione degli otto **aminoacidi essenziali**, che l'organismo umano non è in grado di sintetizzare.

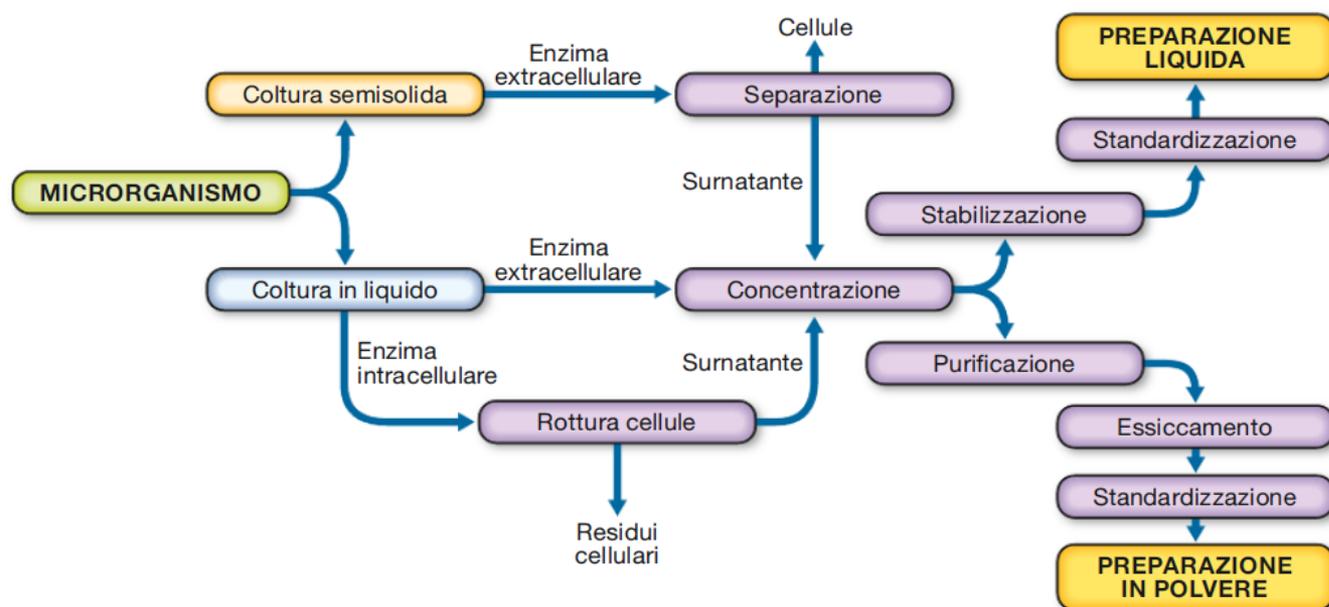
Esempio della **L-lisina**: la via biotecnologica si basa sull'utilizzo di due intermedi metabolici dei microrganismi, che sono acido piruvico e semialdeide aspartica.



**Sintesi biotecnologica della L-lisina.**

# Gli enzimi

Per la produzione biotecnologica degli **enzimi** si utilizzano microrganismi modificati con la tecnologia del DNA ricombinante, soprattutto batteri del genere *Bacillus* e muffe del genere *Aspergillus*. I terreni di coltura contengono substrati amidacei o altre fonti di carboidrati, fattori di crescita, sali minerali, fonti di azoto come urea o sali d'ammonio.



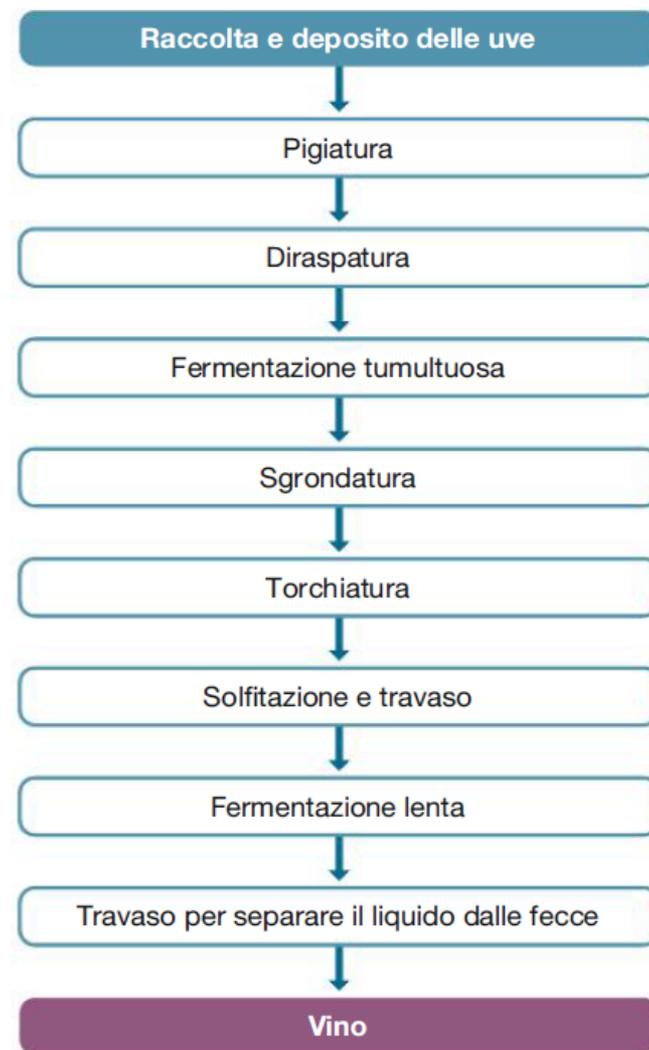
Schema di produzione degli enzimi microbici con coltura liquida o semisolida.

# Il vino /1

La polpa d'**uva** è ricca di glucosio e fruttosio (substrato di fermentazione), ma contiene anche tannini, acidi malico e tartarico, sali di varia natura.

I **microrganismi** nel corso della fermentazione intervengono nella:

- produzione di etanolo e altri solventi che permettono l'estrazione di sostanze aromatiche dall'uva
- produzione di sostanze aromatiche e metaboliti secondari come acidi, esteri, polioli, aldeidi, chetoni e composti solforati volatili
- autolisi di cellule microbiche



Schema a blocchi della produzione del vino.

# Il vino /2

I lieviti di maggior importanza nella vinificazione naturale sono:

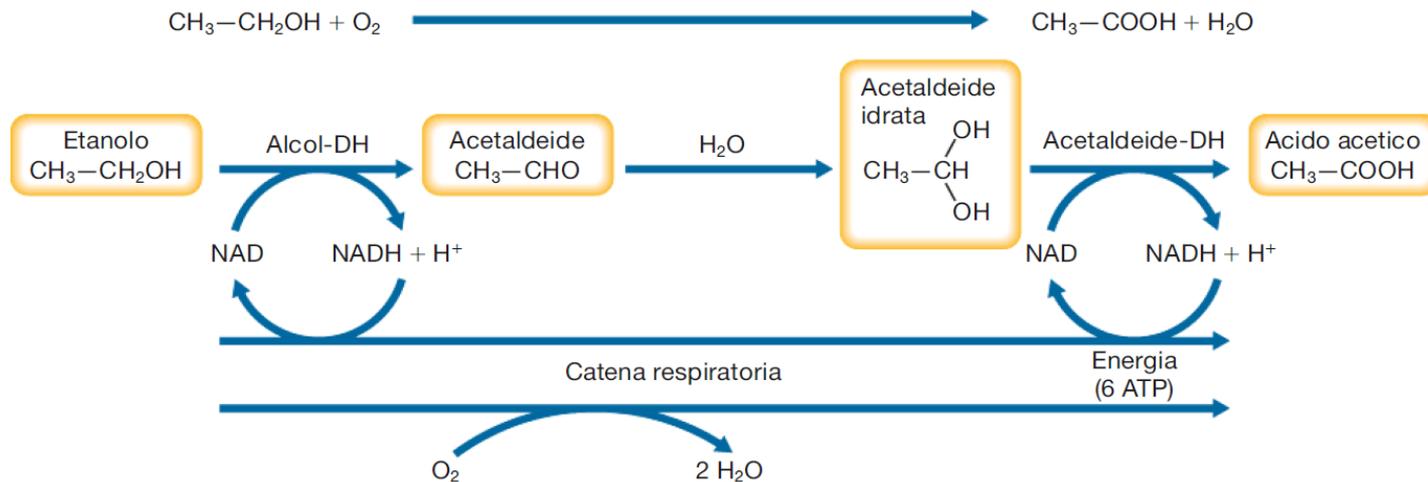
- fra gli **apiculati**: *Kloeckera apiculata* e *Kloeckera magna*
- fra gli **ellittici**: *Saccharomyces ellipsoideus*

Il vino può andare incontro ad **alterazioni** di origine microbica (eventi prevenibili con la pastorizzazione e la solfitazione dei mosti durante la fermentazione):

- sviluppo di **batteri acetici** che conducono alla trasformazione dell'alcol in aceto
- i **batteri lattici** danno origine a diverse alterazioni es. agrodolce
- sviluppo di **lieviti** che provocano la formazione di un velo biancastro superficiale quando il vino è lasciato a contatto con l'aria

# L'aceto e l'aceto balsamico /1

L'**aceto di vino** è prodotto da ceppi di *Acetobacter* e *Gluconobacter* in grado di ossidare l'alcol etilico ad acido acetico. Si tratta quindi di un'**ossidazione** e non di una fermentazione.

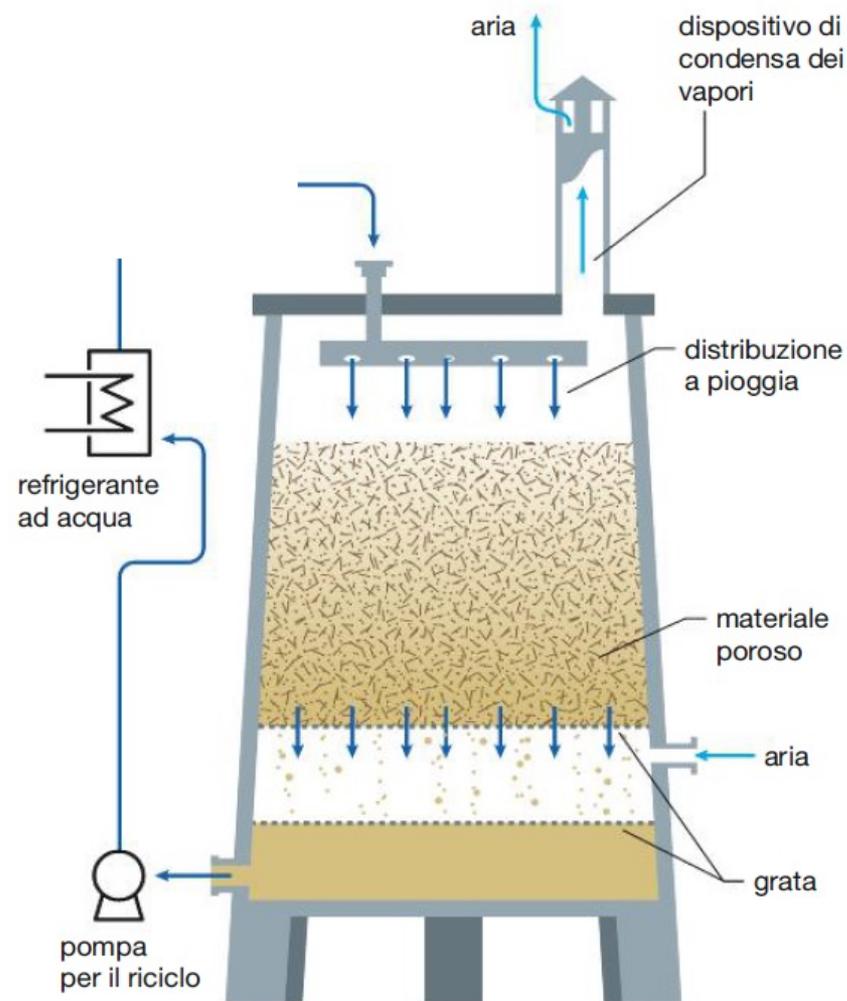


L'**aceto balsamico tradizionale** (che può essere prodotto soltanto nelle province di Modena e Reggio Emilia) deriva dal **mosto cotto**, che subisce prima una fermentazione alcolica, poi una bioossidazione acetica.

# L'aceto e l'aceto balsamico /2

Le tecniche di produzione industriale prevedono due processi diversi:

- **produzione in superficie** o fermentazione lenta
- **produzione in immersione**



**Produzione dell'aceto per fermentazione lenta o in superficie.**

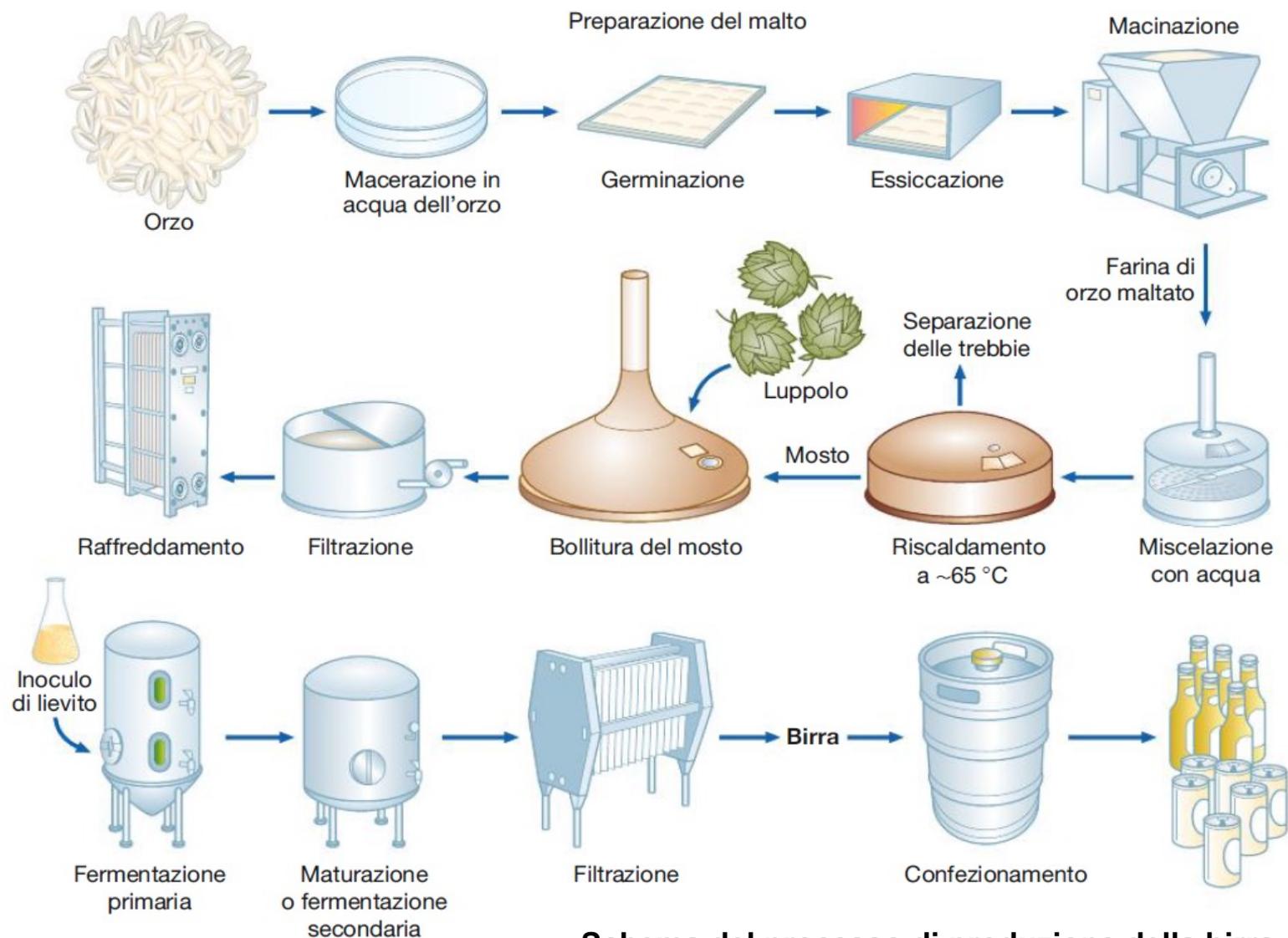
# La birra /1

La **birra** è una bevanda a bassa gradazione alcolica ottenuta dalla **fermentazione** di un mosto preparato con:

- **orzo**, che è sottoposto a vari trattamenti per la trasformazione in malto, oppure cereali succedanei o pseudocereali
- **lievito** (*Saccharomyces*)
- **acqua**, potabile e non troppo dura, con pH sotto la neutralità
- **luppolo**, di cui si utilizzano le infiorescenze femminili (dette coni) che contengono luppolina, dalle proprietà amaricanti e aromatizzanti

I **microrganismi** usati per la fermentazione sono i lieviti starter selezionati *Saccharomices cerevisiae* e *S. uvarum*.

# La birra /2



Schema del processo di produzione della birra.

# La birra /3

Alterazioni della birra: il rischio di contaminazioni aumenta quando si usano lieviti residui da lavorazioni precedenti, in cui possono essere presenti lieviti selvaggi, batteri lattici e bacilli.

- I **lattobacilli** (*Lactobacillus brevis*, *Pediococcus damnosus*, *Lactococcus lactis*) sono responsabili di ossidazioni e sviluppo di acetoina e diacetile, sostanze che causano torbidità e cambiamenti di colore e sapore
- Gli **enterobatteri** (*Hafnia*, *Enterobacter*, *Klebsiella*, *Citrobacter*) provocano la formazione di dimetilsolfuro e conferisce alla birra aromi di frutta o di latte
- I **funghi** che hanno contaminato i cereali di partenza possono produrre micotossine

# Il pane e i prodotti da forno a lievitazione naturale /1

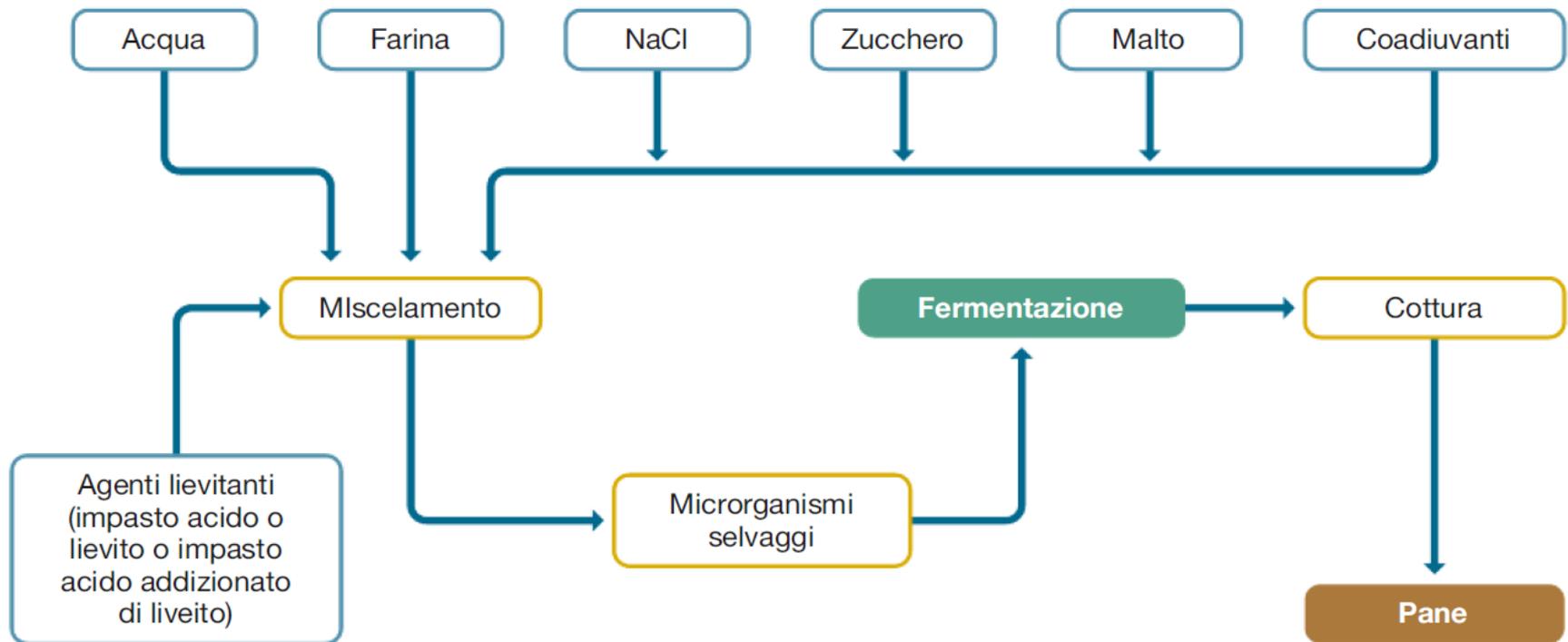
Componente fondamentale della **farina di frumento**, oltre all'amido, sono le due proteine gliadina e glutenina, presenti nelle cariossidi dei cereali, che in presenza di acqua vanno a formare il **glutine**, una lipoproteina che conferisce all'impasto maggior coesione, elasticità e viscosità.

Il microrganismo d'elezione per la **lievitazione naturale** è *Saccharomyces cerevisiae*, che fa lievitare l'impasto formato da farina, acqua e sale.

Nella farina sono contenuti carboidrati (come l'amido) e gli enzimi  $\alpha$ - e  $\beta$ -amilasi, che sono attivati dall'acqua aggiunta per formare l'impasto.

# Il pane e i prodotti da forno a lievitazione naturale /2

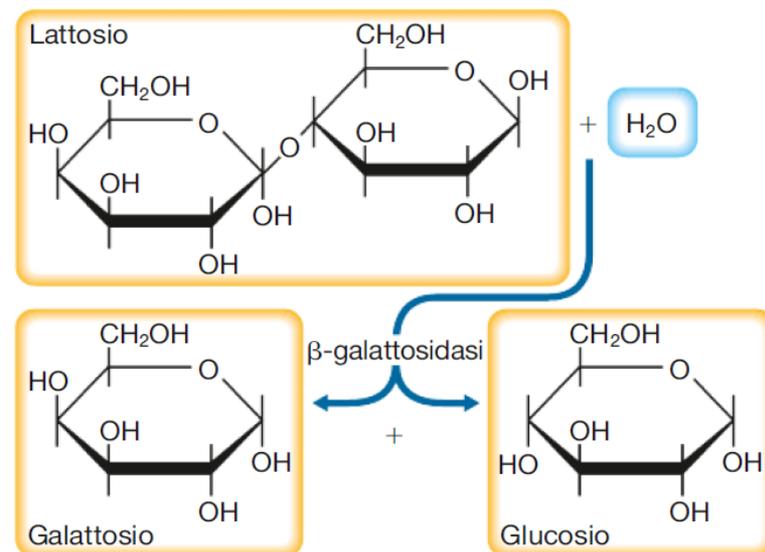
Schema di base per la produzione del pane:



# Yogurt

Lo **Yogurt** è prodotto con l'impiego di colture starter di fermenti lattici selezionati (*Lactobacillus bulgaricus* e *Streptococcus termophilus*) che, aggiunti al latte fresco, ne provocano la trasformazione per la **fermentazione** del lattosio e la produzione di acido lattico:

- il lattosio è demolito in glucosio e galattosio dalla lattasi
- il galattosio è convertito in glucosio
- l'acido piruvico, prodotto dalla glicolisi, è trasformato:
  - dalla lattico deidrogenasi in acido lattico
  - dalla piruvato decarbossilasi in acetaldeide (fonte del caratteristico sapore e aroma)



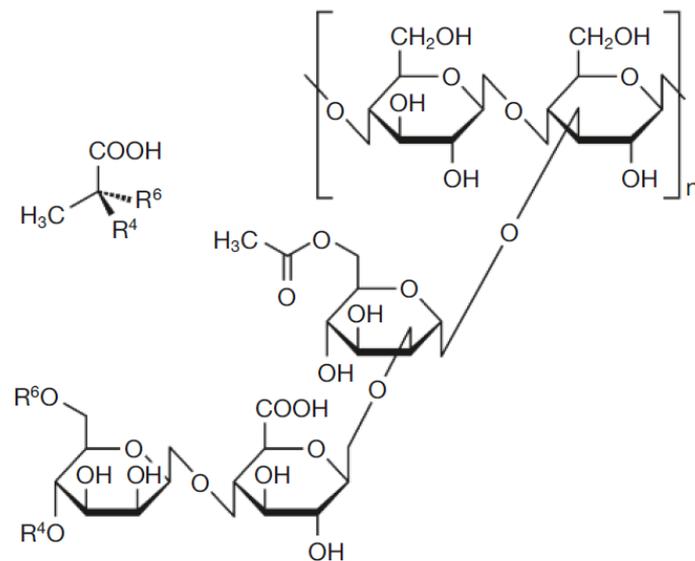
**Idrolisi del lattosio.**

# Esopolisaccaridi alimentari

Molti **polisaccaridi** sono ottenuti da piante superiori o alghe, ma diversi microrganismi sono in grado di produrli con il vantaggio di avere una composizione più standardizzata.

I principali polisaccaridi di origine microbica sono:

- **Xantano:** eteropolisaccaride ramificato prodotto da *Xantomonas campestris*.
- **Destrano:** omopolisaccaride lineare prodotto da *Leuconostoc mesenteroides* e *Leuconostoc destrictum*.
- **Alginato:** costituito da acido mannuronico e acido glucuronico; prodotto da *Pseudomonas aeruginosa* e *Azotobacter vinelandii*.



**Xantano.**