

Istituto Professionale di Stato  
per l'Agricoltura e l'Ambiente

"C. di Cavour" - via Postioma 31033 CASTELFRANCO VENETO (TV)

APPUNTI DI  
**MICROBIOLOGIA**

ANNO SCOLASTICO 1995/1996

CLASSE 3<sup>^</sup> OPERATORE AGROINDUSTRIALE

**PROF. GIORGIO MARCON - PROF. RENATO BALLAN**

## MICROORGANISMI

I microrganismi sono esseri viventi molto piccoli non visibili ad occhio nudo ma solo mediante microscopio ottico oppure elettronico. Possiamo distinguere VIRUS, BATTERI, PROTISTI e FUNGHI. La distinzione può basarsi su alcune caratteristiche proprie di tali microrganismi.

In particolare ci si riferisce alla struttura e all'organizzazione della cellula microbica. In tale ottica i VIRUS possono essere classificati come organismi sub-cellulari in quanto sono costituiti principalmente da una molecola di acido nucleico e non da una cellula e possiedono quindi dimensioni piccolissime. Negli altri casi i microrganismi possiedono struttura cellulare e possiamo distinguere tra PROCARIOTI ed EUCARIOTI.

Appartengono ai Procarioti (=nucleo primitivo) tutti gli organismi privi di membrana nucleare e quindi senza un nucleo definito nelle proprie cellule; nei Procarioti vengono inseriti i BATTERI.

Sono invece Eucarioti (=nucleo evoluto) tutti gli organismi che possiedono cellule con nucleo evidente in quanto il materiale genetico è delimitato dalla membrana nucleare; negli Eucarioti vengono inseriti i FUNGHI e PROTISTI insieme a PIANTE ed ANIMALI.

## VIRUS

Si tratta di microrganismi molto primitivi; non possiedono organizzazione cellulare in quanto sono formati solamente da una molecola di acido nucleico (DNA oppure RNA) avvolta da un involucro generalmente di natura proteica. Essendo quindi infinitamente piccoli si possono osservare solo con l'aiuto di un microscopio ad alta risoluzione come quello elettronico. Mancando di tutte le strutture cellulari i Virus non possiedono alcun metabolismo quindi non possono effettuare scambi di materiale con l'esterno, manca qualsiasi processo di osmosi e di trasporto attivo, non sono in grado di produrre energia autonomamente con la glicolisi, la respirazione oppure la fotosintesi, non riescono a fabbricare alcuna sostanza utile per il loro sviluppo. Pertanto, considerando questi aspetti, possono essere classificati alla pari di molecole non viventi. L'unica attività vitale posseduta dai Virus consiste nella capacità di riprodursi.

## BATTERI O SCHIZOMICETI

Si tratta di microrganismi Procarioti che a differenza dei virus possiedono organizzazione cellulare propria. Ciascun individuo è costituito da una sola cellula (sono quindi organismi unicellulari) che possiede una struttura molto semplice, si presenta con dimensioni ridotte rispetto alle cellule eucariotiche e presenta un'unica membrana che racchiude il citoplasma all'interno del quale si trova pure sparso il materiale genetico; esternamente la membrana cellulare può essere avvolta da una parete cellulare e ancora più all'esterno si può trovare la capsula. Mancano completamente gli organuli cellulari come mitocondri, cloroplasti, lisosomi, vacuoli, ecc. che si trovano invece nelle cellule eucariotiche.

I batteri possono avere forma sferica, cilindrica o incurvata.

I batteri sferici vengono chiamati cocci mentre quelli con forma cilindrica a bastoncino vengono chiamati bacilli.

I batteri con cellule a forma incurvata sono detti vibroni se con una sola curvatura (forma a virgola o a fagiolo), spirilli se hanno forma sinusoidale con poche o larghe curvature, spirochete se la forma è sinusoidale con curvature numerose e ravvicinate.

Riproducendosi le cellule batteriche possono formare colonie con particolari disposizioni nello spazio.

Se nella divisione le cellule rimangono accoppiate si possono avere diplococchi o diplobacilli. Se invece le cellule dividendosi originano catenelle possono prendere il nome di streptococchi o streptobacilli. I cocci possono poi formare colonie di altra forma come tetradi, sarcine o stafilococchi (a grappolo).

<schema forme cellule batteriche>

Da un punto di vista pratico i batteri si possono suddividere in due categorie a seconda del colore che assumono le cellule quando vengono trattate con un procedimento particolare che prende il nome di colorazione di Gram. In pratica si trattano le cellule batteriche con un colorante violetto particolare (cristal violetto) che viene poi allontanato attraverso risciacquatura con alcool etilico.

A seconda della composizione della parete cellulare dei batteri, questa sostanza colorata può essere trattenuta oppure no. Pertanto si possono avere cellule di batteri che assumono il colorante violetto e vengono indicati come Gram positivi (Gram +); quando invece i batteri non trattengono il colore violetto vengono indicati come Gram negativi (Gram -).

I batteri, poichè possiedono struttura cellulare, possono scambiare materiali con l'ambiente esterno attraverso processi osmotici oppure il trasporto attivo, sono in grado di produrre energia in modo autonomo attraverso processi di fermentazione ma anche con la respirazione oppure in certi casi con la fotosintesi. Questi ultimi due processi energetici, mancando mitocondri e cloroplasti, avvengono a livello della membrana cellulare.

FUNGHI O EUMICETI O CRITTOGAME

Si tratta di microrganismi più evoluti con organizzazione cellulare più complessa. La cellula presenta un nucleo definito per la presenza della membrana nucleare; inoltre sono presenti anche gli organuli cellulari delimitati da altre membrane biologiche (mitocondri, lisosomi, reticolo endoplasmatico, apparato del golgi, ecc.).

Trattandosi di Eucarioti e quindi con organizzazione cellulare più complessa, la dimensione delle cellule è maggiore rispetto a quella dei batteri.

Inoltre i funghi sono organismi generalmente pluricellulari. Ogni individuo è costituito da tante cellule che hanno origine da singole unità dette genericamente spore, le quali attraverso riproduzione per mitosi formano filamenti detti ife che nel loro complesso costituiscono il micelio.

Ai fini del presente corso possiamo ricordare tra i funghi i LIEVITI e le MUFFE. I lieviti sono funghi unicellulari e come tali non formano micelio mentre le muffe sono funghi pluricellulari che formano micelio.

## RIPRODUZIONE NEI MICRORGANISMI

### RIPRODUZIONE DEI VIRUS

Nei virus l'unica attività che li caratterizza come esseri viventi è appunto la riproduzione in quanto, come già detto, mancando di organizzazione cellulare (ricordiamo che i virus sono da considerare come semplici molecole) manca pure qualsiasi attività metabolica (il metabolismo si può considerare come l'insieme delle reazioni chimiche che avvengono nella cellula e che le consentono di vivere). Pertanto i virus per riprodursi devono per forza attaccare altre cellule viventi per poter utilizzare i loro materiali e la loro energia al fine di costruire i componenti necessari alla formazione di nuove molecole virali.

Una volta penetrato nella cellula il virus annulla le informazioni contenute nel materiale genetico di questa e si sostituisce ai cromosomi cellulari con le informazioni genetiche contenute nel proprio filamento di acido nucleico. Così tutta l'attività della cellula si svolge sotto i comandi del virus che fornisce informazioni finalizzate a produrre nuove particelle virali identiche al virus stesso.

La cellula aggredita dal virus, a causa del metabolismo "deviato", alla fine muore liberando le particelle virali che nel frattempo ha, suo malgrado, costruito.

I nuovi virus sono in grado a questo punto di aggredire nuove cellule per riprodursi nuovamente.

Nel caso dell'uomo e degli animali superiori esistono cellule del sistema immunitario che consentono all'organismo di difendersi dai virus per cui, dopo una prima fase di infezione, queste cellule sono in grado di fabbricare delle molecole proteiche dette "anticorpi" in grado di bloccare la molecola del virus.

## RIPRODUZIONE DEI BATTERI

La riproduzione dei batteri avviene per scissione della cellula, con duplicazione del DNA e formazione di due cellule identiche geneticamente a quella di partenza. Essendo i batteri microrganismi unicellulari, attraverso la scissione si originano ogni volta nuovi individui. Pertanto nell'ipotesi di condizioni favorevoli allo sviluppo di questi microrganismi si avrà una crescita esponenziale in quanto ad ogni divisione cellulare corrisponderà il raddoppio del numero di individui (ad es. partendo da una cellula singola la sequenza sarà: 1 2 4 8 16 32 64 128 256 512 1024 ecc.).

<schema moltiplicazione dei batteri - esempi>

Quindi la crescita di una popolazione batterica è un fenomeno piuttosto veloce in quanto in condizioni adatte di temperatura, substrato, presenza di acqua, ecc., è possibile passare in poche ore da un individuo ad un miliardo di individui.

Poichè la riproduzione avviene attraverso semplice divisione della cellula con duplicazione del DNA, tutti gli individui che si originano da una singola cellula batterica iniziale possiedono lo stesso corredo genetico. La variabilità genetica è pertanto limitata e dipende solo da mutazioni che possono verificarsi a livello del cromosoma della cellula batterica. Tuttavia è possibile che alcuni caratteri genetici possano comparire in una popolazione di batteri grazie ai plasmidi. Si tratta di piccole molecole di DNA a struttura circolare, sparse nel citoplasma, completamente autonome e indipendenti dal cromosoma della cellula batterica (si parla anche di DNA extracromosomiale). Su questi plasmidi si possono trovare sequenze di nucleotidi particolari che codificano determinati caratteri non presenti sul cromosoma.

I plasmidi possono replicarsi ed essere trasferiti da una cellula ad un'altra attraverso ponti citoplasmatici. Pertanto una cellula batterica può acquisire determinati caratteri ricevendo un plasmide proveniente da un'altra cellula che ne sia provvista.

<schema duplicazione cellula batterica e plasmidi>

I funghi, essendo organismi più evoluti (Eucarioti), possono riprodursi in modo diverso rispetto agli organismi più primitivi. Negli Eucarioti infatti possiamo trovare una riproduzione asessuata o agamica, che avviene attraverso un processo di divisione cellulare detto mitosi, oppure una riproduzione sessuata o gamica che avviene attraverso un processo di meiosi con successiva gamia (unione dei gameti).

mitosi

Con il processo di mitosi una cellula si divide dando origine a due cellule con patrimonio genetico identico.

(es.  $n \rightarrow n \& n$  oppure  $2n \rightarrow 2n \& 2n$ )

<schema>

meiosi

Con il processo di meiosi una cellula si divide dando origine a due cellule con patrimonio genetico dimezzato; le cellule che si originano dalla meiosi portano i cromosomi presi casualmente da ciascuna coppia omologa della cellula di partenza. In pratica ogni coppia di cromosomi omologhi della cellula madre avrà un rappresentante singolo nelle cellule figlie. (es.  $2n \rightarrow n \& n$ )



<schema>

gamia

Con il processo di gamia due cellule con funzione di gameti si uniscono dando origine a una cellula con patrimonio genetico risultante dalla somma dei cromosomi omologhi di ciascun gamete (es.  $n + n = 2n$ )

<schema>

Attraverso il processo di mitosi si originano quindi cellule tutte uguali come patrimonio genetico. La variabilità genetica deriva invece dai processi di meiosi e di gamia e quindi si manifesta solo nel caso di riproduzione gamica. Generalmente i funghi si sviluppano attraverso cicli di riproduzione agamica producendo per mitosi cellule dette spore in grado di originare altri individui geneticamente identici. La riproduzione gamica compare invece in presenza di ambiente sfavorevole

allo sviluppo; attraverso questo processo gli organismi fungini danno origine a spore con patrimonio genetico diverso.

<schema Ciclo biologico di un lievito>

I lieviti come già accennato sono funghi unicellulari che non formano micelio. Si riproducono agamicamente, quindi attraverso mitosi, con una divisione cellulare non simmetrica. Quando una cellula si divide infatti si ha un processo detto "gemmazione" attraverso il quale la cellula di partenza origina due cellule identiche come patrimonio genetico ma diverse come dimensione; la più grande viene anche indicata come "cellula madre" mentre la più piccola viene indicata come "cellula figlia".

Essendo i lieviti organismi unicellulari la loro moltiplicazione può considerarsi simile a quella dei batteri con ritmi di crescita elevati in presenza di condizioni favorevoli al loro sviluppo (crescita esponenziale).

Per quanto riguarda i lieviti Ascomiceti (importanti per numerosi processi di trasformazione) il corredo genetico delle cellule e quindi degli individui è generalmente diploide e la riproduzione agamica attraverso mitosi interessa quindi cellule diploidi. In condizioni avverse avviene il fenomeno della meiosi con formazione di cellule aploidi che rimangono racchiuse nell'involucro cellulare di partenza. Queste cellule aploidi in numero di quattro o multipli di quattro prendono il

nome di ascospore e l'involucro che le contiene viene denominato asco (sacco). Con la rottura dell'asco vengono liberate le ascospore che attraverso gamia si uniscono originando nuove cellule e quindi nuovi organismi con corredo genetico diploide.

<schema Ciclo biologico di una muffa>

In condizioni ambientali sfavorevoli questi organismi fungini possono trovarsi sotto forma di spore diploidi. Queste spore possono dare origine per meiosi ad altre spore aploidi in grado di germinare su un substrato ed in un ambiente adatto allo sviluppo del fungo. Essendo le muffe dei microrganismi pluricellulari la germinazione delle spore aploidi avviene attraverso mitosi con formazione di filamenti detti ife costituiti da più cellule. L'insieme delle ife prodotte da una singola spora aploide porta alla formazione di un micelio pure aploide. Quando il micelio si è formato il fungo può riprodursi agamicamente attraverso la formazione di ife particolari che all'estremità liberano, sempre attraverso mitosi, nuove spore aploidi con lo stesso corredo genetico del micelio che le ha originate. Tali spore prendono il nome di "conidi" e le ife che li originano vengono indicate con il termine di "rami conidiofori" (rami che portano conidi). I conidi si comportano come le spore aploidi viste in precedenza per cui ciascuno di essi in condizioni adatte è in grado di originare un micelio che dopo essersi sviluppato potrà formare a sua volta nuovi conidi. Il ciclo agamico di una muffa può quindi ripetersi continuamente finché il fungo trova condizioni ideali per il suo sviluppo (umidità, substrato, ecc.). In determinati casi può aver luogo il ciclo gamico ove due cellule aploidi si comportano come gameti e si uniscono attraverso la gamia formando cellule diploidi destinate successivamente a dividersi per meiosi formando ancora nuove spore aploidi.

## FATTORI CHE INFLUISCONO SULLO SVILUPPO DEI MICRORGANISMI

Lo sviluppo dei microrganismi viene influenzato da numerosi fattori che agiscono sul metabolismo delle cellule. I fattori più importanti che regolano lo sviluppo delle cellule microbiche sono: acqua, temperatura, substrato, pH, radiazioni, presenza/assenza di ossigeno, presenza/assenza di sostanze inibenti.

### ACQUA

L'acqua è una molecola indispensabile per gli esseri viventi. Senza l'acqua non può esserci la vita, pertanto anche i microrganismi dipendono dall'acqua per il loro sviluppo. L'acqua è la componente principale di ogni cellula vivente e costituisce la matrice in cui vengono disciolte o sospese le altre sostanze come proteine, carboidrati, acidi nucleici, sali minerali, lipidi, ecc.

È formata da due atomi di idrogeno e un atomo di ossigeno ( $H_2O$ ) che si legano tra loro attraverso legami di tipo covalente polare. L'atomo di ossigeno infatti essendo più elettronegativo dell'idrogeno attrae verso di sé gli elettroni di legame.

Viene a crearsi così un addensamento elettronico in corrispondenza dell'ossigeno mentre sugli atomi di idrogeno si ha una rarefazione della nube di elettroni. Ne risulta una molecola con un polo parzialmente negativo verso l'atomo di ossigeno e un polo parzialmente positivo verso gli atomi di idrogeno. Per tale caratteristica polarità si instaurano tra le molecole d'acqua delle forze di attrazione tra i poli negativi e i poli positivi in modo che tale sostanza a temperatura ambiente si presenta in forma liquida. Abbassando la temperatura il movimento delle molecole diminuisce e le forze di attrazione intermolecolare prevalgono cosicché a zero gradi centigradi ( $0^{\circ}C$ ) l'acqua pura solidifica formando cristalli di ghiaccio. Se si innalza invece la temperatura aumenta la velocità di movimento delle molecole in modo tale che queste riescono a vincere le forze che tendono a trattenerle e pertanto passano dallo stato liquido allo stato gassoso (vapore acqueo) attraverso un processo detto evaporazione. Quando si innalza molto la temperatura si può avere il fenomeno di ebollizione che consiste nella formazione turbolenta di bolle di vapore acqueo sviluppatasi all'interno della massa d'acqua riscaldata. L'ebollizione si verifica nel momento in cui la pressione del vapore acqueo sviluppatosi uguaglia la pressione atmosferica circostante. Pertanto la temperatura di ebollizione dell'acqua dipende dalla pressione circostante dell'ambiente in cui viene

riscaldata. Alla pressione di una atmosfera l'acqua bolle a cento gradi centigradi (100°C). Se si abbassa la pressione la temperatura di ebollizione diminuisce, se invece si alza la pressione la temperatura di ebollizione sale. Pertanto mantenendo l'acqua alla pressione di una atmosfera non sarà possibile riscaldarla oltre 100°C poiché una volta raggiunta tale temperatura tutte le molecole d'acqua passano allo stato di vapore.

Se nell'acqua vengono aggiunte altre sostanze queste possono legarsi con le molecole dell'acqua stessa nel caso in cui si tratti di composti polari (es. sali, zuccheri, aminoacidi, ecc.); se invece si tratta di composti apolari (es. grassi) questi non potranno legare alcuna molecola d'acqua.

Nel caso in cui si abbia una soluzione anziché acqua pura si osserva un abbassamento del punto di congelamento che scende quindi sotto 0°C (abbassamento crioscopico) e un innalzamento del punto di ebollizione che sale quindi oltre i 100°C alla pressione di 1 atm (innalzamento ebullioscopico).

Pertanto a parità di altre condizioni la pressione del vapore che si sviluppa dall'acqua pura è maggiore rispetto a quella dell'acqua contenente altre sostanze disciolte (es. acqua e sale) perché nel secondo caso molte molecole d'acqua risultano legate ai composti polari e non più libere di muoversi come nell'acqua pura. Questa considerazione è importante quando si considera l'influenza dell'acqua sullo sviluppo dei microrganismi. Si deve infatti prendere in considerazione non la quantità di acqua totale contenuta in un substrato di sviluppo bensì la quantità di acqua che si potrebbe definire libera o disponibile cioè non legata. Questo parametro può essere espresso attraverso un valore che viene definito con il termine di «attività dell'acqua», in sigla «Aw» (Activity water), e si ottiene dal rapporto tra la tensione (pressione) di vapore nell'acqua contenuta in un alimento e la tensione di vapore dell'acqua pura alle stesse condizioni di temperatura.

$$\text{Attività H}_2\text{O (Aw)} = \frac{\text{tensione di vapore di H}_2\text{O nell'alimento}}{\text{tensione di vapore di H}_2\text{O pura}}$$

Tale rapporto quindi può assumere valori che vanno da 0 a 1 e sarà tanto più alto quanto maggiore è la quantità di acqua libera in un substrato. Pertanto se un substrato contiene molte sostanze polari in grado di legare le molecole d'acqua il parametro Aw sarà basso rispetto invece ad un substrato in cui le sostanze polari in grado di legare l'acqua sono quasi assenti. Consideriamo ad esempio il burro e la marmellata; il burro può contenere il 10% di acqua mentre la marmellata può contenere il 40-50%

di acqua; tuttavia l'acqua contenuta nel burro è più libera rispetto all'acqua contenuta nella marmellata; nel caso del burro infatti sono presenti sostanze grasse apolari che non formano legami con l'acqua, mentre nella marmellata la presenza soprattutto di zucchero consente di imprigionare un gran numero di molecole di acqua. Il parametro  $A_w$  risulterà più alto per il burro e più basso per la marmellata.

I microrganismi si adattano diversamente ai valori di  $A_w$  di un substrato. I batteri sono i microrganismi più esigenti in termini di acqua libera e quindi disponibile per il loro sviluppo. Pertanto un substrato potrà essere adatto per lo sviluppo dei batteri solo se contiene molta acqua disponibile quindi con valori di  $A_w$  elevati (in particolare si ritengono necessari per lo sviluppo dei batteri valori di  $A_w$  superiori a 0,9). I lieviti sono microrganismi meno esigenti rispetto ai batteri in termini di acqua disponibile; si ritengono necessari per lo sviluppo dei lieviti valori di  $A_w$  superiori a 0,85. Le muffe invece si possono sviluppare con valori di  $A_w$  relativamente bassi fino a 0,8. Tuttavia si possono trovare microrganismi particolarmente resistenti anche a valori normalmente critici; così ad esempio i microrganismi alofili (che vivono in acque salate) si sviluppano anche con valori di  $A_w$  fino a 0,65. Nessun microrganismo è invece in grado di svilupparsi su substrati che presentano valori di  $A_w$  inferiori a 0,65.

<schema su adattamento dei m.o. all'acqua>

## TEMPERATURA

La temperatura rappresenta la misura dell'energia termica posseduta da una sostanza. Il calore fornito ad una sostanza si traduce in un aumento della velocità delle particelle (molecole) che la compongono. Pertanto più alta è la temperatura e maggiore è la quantità di energia cinetica posseduta dalle molecole. Quando si raggiungono temperature troppo alte si verificano alterazioni nella struttura di alcune molecole e in particolare nelle cellule viventi si ha il blocco del metabolismo e quindi delle funzioni vitali. Le cellule viventi e quindi anche i microrganismi non

possono vivere a temperature troppo alte perché si ha il fenomeno della denaturazione delle proteine e degli acidi nucleici e quindi il blocco dell'attività enzimatica e in definitiva l'arresto delle reazioni chimiche con la morte conseguente della cellula.

Quando la temperatura scende si assiste invece ad un rallentamento dell'attività metabolica dovuto alla diminuzione di energia cinetica posseduta dalle molecole. In tal modo rallenta l'attività degli enzimi e il metabolismo delle cellule si svolge con ritmi molto lenti fino a bloccarsi del tutto con temperature al di sotto del punto di congelamento. I microrganismi quindi non possono svilupparsi quando l'acqua contenuta nelle cellule congela in quanto viene a mancare un requisito essenziale già descritto in precedenza. Si può pensare infatti che l'acqua congelata possieda un valore di  $A_w$  uguale a zero e come tale non consente lo sviluppo. Le cellule microbiche possono comunque tornare a svilupparsi qualora la temperatura dovesse salire con riattivazione quindi delle reazioni chimiche che caratterizzano il metabolismo cellulare.

Anche le temperature troppo basse possono tuttavia causare in certi casi la morte dei microrganismi per lacerazione delle membrane cellulari dovuta all'aumento del volume del protoplasma conseguente al congelamento dell'acqua.

Da quanto esposto si può concludere che le temperature molto elevate uccidono i microrganismi mentre le temperature molto basse bloccano lo sviluppo, riducono talvolta la popolazione, ma non eliminano i microrganismi.

I microrganismi si adattano a diverse fasce di temperatura per cui si possono distinguere microrganismi psicrofili, mesofili e termofili, a seconda che preferiscano rispettivamente temperature basse, intermedie o alte per il loro sviluppo.

<schema temperatura e microrganismi>

In particolare le muffe sono microrganismi psicrofili e si sviluppano bene a temperatura ambiente (15-20°C ma anche 4°C come nel frigorifero). Nei lieviti possiamo distinguere invece gli ellittici che sono psicrofili dagli apiculati che sono invece mesofili; pertanto i secondi si sviluppano meglio con temperature più alte rispetto ai primi che invece a tali temperature riducono lo sviluppo.

Per quanto riguarda i batteri possiamo dire che esistono tantissime specie che possono svilupparsi a diverse temperature e pertanto avremo sia batteri psicrofili sia batteri mesofili sia batteri termofili.

## SUBSTRATO

Il substrato rappresenta l'alimento per i microrganismi, l'insieme delle sostanze che servono ai microrganismi stessi per vivere, dalle quali ricavano energia e materie prime per il loro metabolismo.

Il substrato può essere di varia natura, costituito da sostanze organiche o inorganiche a seconda del tipo di microrganismo che vi si sviluppa.

In particolare i microrganismi "autotrofi" hanno bisogno solo di un substrato inorganico costituito da sali minerali in grado di apportare gli elementi semplici dai quali verranno ricavate le molecole organiche più complesse come riescono a fare anche le piante.

Per i microrganismi "eterotrofi" invece il substrato deve essere costituito necessariamente da molecole organiche che verranno scomposte e riutilizzate per la costruzione delle proprie strutture e per la produzione di energia da impiegare nei processi vitali.

Esistono diversi tipi di substrato a seconda della prevalenza o meno di alcuni principi nutritivi quali protidi (o proteine), glucidi (o carboidrati), lipidi (o grassi). Ricordiamo che sui substrati ricchi di proteine si sviluppano più facilmente i microrganismi cosiddetti "proteolitici" che comprendono prevalentemente i batteri e in certi casi le muffe. Il substrato glucidico, ricco cioè di zuccheri, consente lo sviluppo di un numero elevato di microrganismi di tutti i tipi quali batteri, lieviti e muffe.

I substrati ricchi di grassi presentano invece difficoltà in genere per lo sviluppo di microrganismi; in questi casi generalmente si assiste allo sviluppo delle muffe che aprono poi la strada all'attacco di altri microrganismi.



## RADIAZIONI

Le radiazioni a corta lunghezza d'onda (e quindi ad alta frequenza) rappresentano un fattore limitante per lo sviluppo dei microrganismi. Ricordiamo che le radiazioni elettromagnetiche possono avere effetti diversi a seconda della loro lunghezza d'onda. Infatti al diminuire di questa aumenta la frequenza e quindi l'energia, viceversa se la lunghezza d'onda aumenta diminuisce la frequenza e di conseguenza l'energia della radiazione. Gli effetti sulle molecole sono quindi diversi poiché le radiazioni a bassa frequenza (es. infrarosso) forniscono energia sufficiente solo ad accelerare il moto delle particelle e determinano quindi solo un aumento di calore delle sostanze mentre le radiazioni ad alta frequenza (es. raggi ultravioletti, raggi x, raggi gamma, ecc.) possiedono energia tale da spezzare i legami chimici determinando alterazioni irreversibili nella struttura delle molecole degli esseri viventi.

Pertanto i microrganismi come ogni altra forma di vita vengono bloccati con l'esposizione ad un campo di radiazioni ad alta frequenza che determina la morte delle cellule.

E' possibile quindi ottenere la sterilizzazione oltre che con le alte temperature anche utilizzando ad esempio i raggi ultravioletti (raggi U.V.).

La vita sulla terra è possibile grazie ad un filtro di ozono che si trova nell'atmosfera ed è in grado di assorbire gran parte delle radiazioni a corta lunghezza d'onda nocive per gli esseri viventi.

## OSSIGENO

E' un fattore importante per la vita dei microrganismi. E' indispensabile per la respirazione, un processo cellulare che consente la produzione di energia. La mancanza di ossigeno quindi blocca lo sviluppo di tutti quei microrganismi che per vivere hanno bisogno di respirare.

Un eccesso di ossigeno può però essere dannoso perché determina una ossidazione forte delle molecole contenute nelle cellule determinando la formazione di sostanze che possono risultare tossiche per il metabolismo. Ricordiamo che esistono microrganismi abituati a vivere in ambienti privi di ossigeno in quanto hanno sviluppato un metabolismo diverso dove questo elemento non interviene ma rappresenta anzi una condizione di limitazione. Sulla base di quanto descritto possiamo distinguere allora due gruppi principali di microrganismi. I microrganismi aerobi sono

quelli che si sviluppano in presenza di ossigeno mentre gli anaerobi vivono in assenza di ossigeno. Nell'ambito di questi due gruppi possiamo distinguere ancora gli obbligati e i facoltativi.

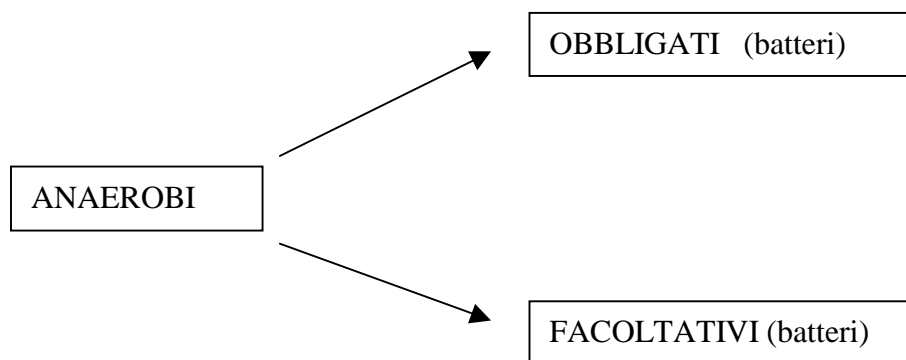
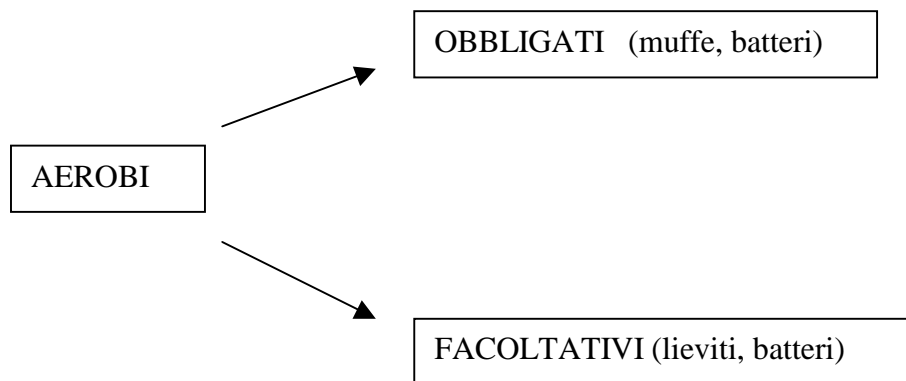
Avremo microrganismi aerobi obbligati quando il loro sviluppo è legato per forza alla presenza di ossigeno; ricordiamo in questo caso le muffe.

Avremo microrganismi aerobi facoltativi quando il loro sviluppo avviene normalmente in presenza di ossigeno ma possono vivere anche se l'ossigeno viene a mancare modificando opportunamente il loro metabolismo energetico; ricordiamo in questo caso i lieviti che si sviluppano normalmente in ambiente aerobico ricavando energia dalla respirazione ma possono vivere anche in ambiente anaerobico ricavando energia dalla fermentazione.

I microrganismi anaerobi obbligati si sviluppano necessariamente in assenza di ossigeno.

I microrganismi anaerobi facoltativi vivono generalmente in assenza di ossigeno ma possono svilupparsi ugualmente anche in presenza di questo elemento.

I batteri in particolare comprendono tutte le forme illustrate.



## pH

Rappresenta un altro importante fattore di sviluppo per i microrganismi. Ricordiamo che il pH rappresenta una misura su scala logaritmica della concentrazione di ioni idrogeno ( $H^+$ ) in una soluzione; in altre parole il pH consente di determinare l'acidità o la basicità di una soluzione acquosa e assume valori che vanno da 0 a 14 (acido da 0 a 7 \_ basico da 7 a 14 \_ neutro con valori intorno a 7).

Valori di pH estremi, cioè che si discostano molto dalla neutralità, non consentono ai microrganismi di vivere. Ricordiamo tuttavia che gli organismi microbici hanno un adattamento diverso ai valori di pH.

I batteri si sviluppano generalmente con pH intorno alla neutralità (valori da 6 a 8).

I lieviti preferiscono svilupparsi in ambiente acido con pH variabile da 3 a 6.

Le muffe invece si adattano a diversi valori di pH sia acidi che basici con intervallo che va generalmente da 2,5 a 9.

<schema sul pH>

## SOSTANZE INIBENTI

Sono molecole chimiche in grado di bloccare lo sviluppo dei microrganismi.

Possono essere di derivazione naturale in quanto prodotte dagli stessi microrganismi oppure possono essere sostanze estranee ai processi naturali e fabbricate in laboratorio per poter essere aggiunte poi agli alimenti.

Nel caso delle sostanze provenienti da processi naturali ricordiamo che moltissime fermentazioni danno origine a prodotti chimici che in seguito ad accumulo raggiungono concentrazioni tali da inibire lo sviluppo degli stessi microrganismi che li hanno fabbricati. Tra le sostanze inibenti di questo tipo possiamo ricordare l'alcool etilico, che si forma nella fermentazione alcolica, l'acido acetico, che deriva dalla fermentazione acetica, l'acido lattico che proviene dalla fermentazione lattica, l'acido propionico che deriva dalla fermentazione propionica.

Nel caso delle sostanze artificiali si parla di conservanti. Ricordiamo a tale proposito alcuni conservanti che sono utilizzati nell'industria alimentare.

Acido sorbico, acido benzoico, anidride solforosa, nitriti e nitrati, antibiotici.....

## ALTERAZIONI MICROBICHE

TIPO DI ALTERAZIONE	MICROORGANISMI RESPONSABILI	TIPO DI SUBSTRATO	pH	PRINCIPALI SOSTANZE PRODOTTE
Fermentazione alcoolica	Lieviti	glucidi	acido	alcool etilico anidride carbonica
Fermentazione lattica	batteri lattici	glucidi	neutro-acido	acido lattico
Fermentazione acetica	batteri acetici	glucidi	neutro-acido	acido acetico
Fermentazione propionica	batteri propionici	glucidi	neutro-acido	acido propionico anidride carbonica
Fermentazione butirrica	batteri butirrici	glucidi	neutro	acido butirrico anidride carbonica
Fermentazione putrefattiva	batteri proteolitici	proteine	neutro-alcalino	amminoacidi, acqua, ammine, ammoniaca, anidride carbonica
Ammuffimenti	muffe	vario	vario	sostanze organiche e inorganiche ossidate (alcool, aldeidi, chetoni, acidi, ecc.)
Irrancidimento microbico	muffe	lipidi	vario	perossidi, composti organici ossidati