



Prodotti da processi biotecnologici

Biomasse

microbiche

Indice

In copertina

Spirulina in polvere

By Music4thekids (Own work) [CC BY-SA 3.0 (http://creativecommons.org/licenses/by-sa/3.0)], via Wikimedia Commons - <https://commons.wikimedia.org/wiki/File%3ASpirulina.jpg>

Biomasse microbiche:
introduzione

Fonti alternative di proteine: SCP
(single cell proteins)

Starter per industrie alimentari:
lievito per panificazione

Colture insetticide: Bacillus
thuringiensis

Colture di Rhizobium

Photo credits

Introduzione



BioTechnologySanitarie.it

Introduzione: biomasse microbiche

I microrganismi vengono ormai sfruttati ampiamente nei processi biotecnologici su larga scala, cioè in campo industriale. I prodotti che si ottengono possono essere suddivisi in tre grandi gruppi:

- biomasse microbiche
- derivati del metabolismo primario
- derivati del metabolismo secondario

Questa presentazione è dedicata alle biomasse microbiche.

Introduzione: biomasse microbiche

Il termine indica colture di microrganismi che diventano essi stessi prodotto per ottenere:

- ❖ fonti alternative di proteine e vitamine nell'alimentazione umana
- ❖ starter per le industrie enologiche e di bevande alcoliche, di pane e prodotti da forno, di derivati del latte ...
- ❖ colture selezionate per il disinquinamento ambientale
- ❖ colture insetticide

Introduzione: biomasse microbiche

Fin dalla Seconda Guerra Mondiale si è studiata la possibilità di mettere in coltura microrganismi edibili come sostitutivi del cibo normale vista la penuria negli approvvigionamenti.

A guerra finita lo scopo era cambiato: saziare quella parte di umanità con poche risorse.

Ma gli studi sono stati frenati da diverse difficoltà: costi, problemi tossicologici, tecnologie ancora non ben conosciute o da scoprire.

SCP

Single cell proteins

BioTechnologySanitarie.it

SCP

Se i microrganismi in questione sono edibili e alto-produttori di proteine diventano estremamente interessanti per la prima categoria.

In questo caso si parla di

SCP - Single Cell Proteins

Cioè proteine da organismi a cellula unica. Quali sono i microrganismi più sfruttati? ecco qualche esempio.

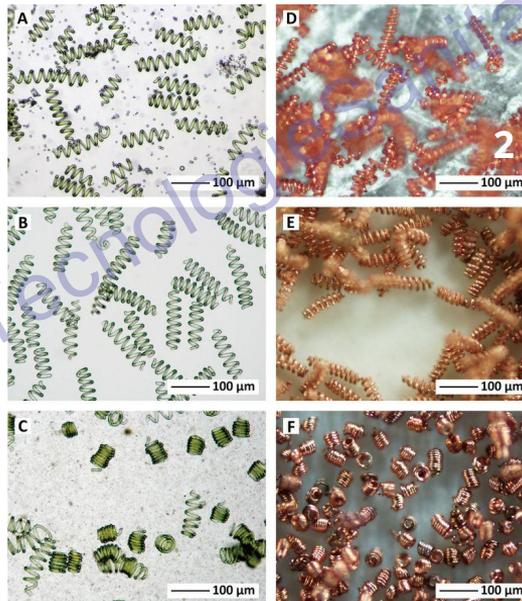
SCP: spirulina

Batteri: Spirulina (gen. *Arthrospira* - Cianobatterio)



Da sinistra a destra:

- pasticche di spirulina
- microspire di spirulina prima e dopo elettrodeposizione di rame
- struttura della spirulina

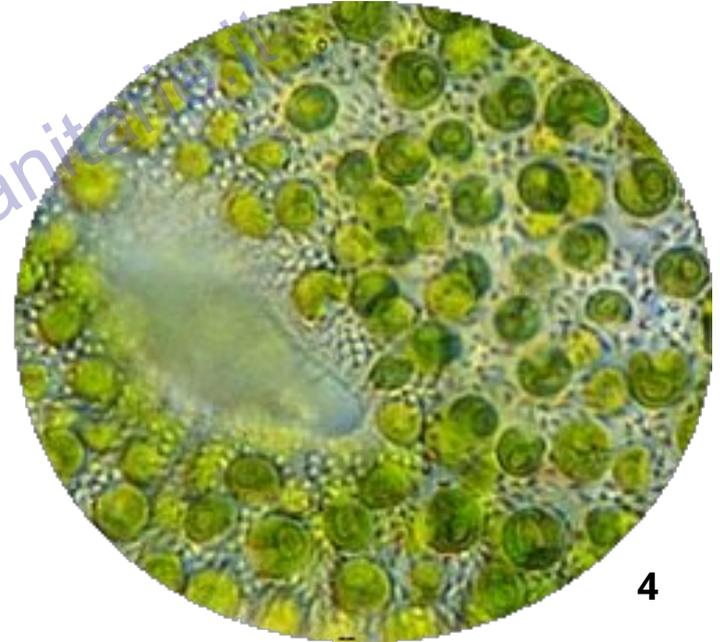


SCP: alghe

Alghe: Chlorella

Siamo nel regno delle piante.

Non ha la stessa diffusione della spirulina perché ha ancora costi di produzione alti e qualche difficoltà nella coltura



4

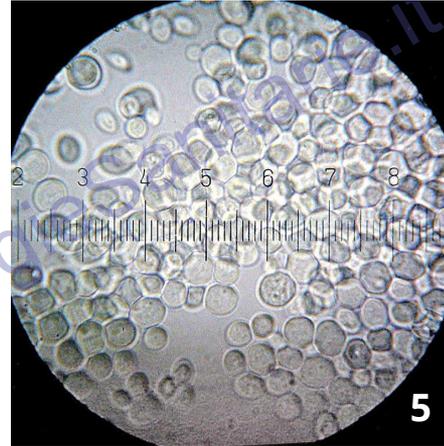
Chlorella vista al microscopio

SCP: funghi

Funghi (lieviti):

Saccharomyces cerevisiae

In questo caso ci interessa
come integratore
alimentare e fonte proteica



Qui sopra Saccharomyces cerevisiae visto al microscopio.
Di lato trasformato in integratore alimentare



SCP: funghi

Funghi: Fusarium venenatum

Fungo filamentoso coltivato per le sue proteine (micoproteine) usate come cibo alternativo alla carne. Il marchio più famoso commercializzato in Europa e negli USA è il Quorn



7

SCP: funghi

Funghi: *Fusarium venenatum*

Il processo di produzione è una fermentazione analoga a quella dello yogurt e di molti altri prodotti.

Il fungo viene fatto crescere in vasche piene di sciroppo di glucosio. Siccome il fungo respira aerobicamente, si attua un arricchimento di ossigeno.

Per aumentare la sua produzione si aggiungono anche azoto sotto forma di ammonio e vitamine.

SCP: funghi

Funghi: Fusarium venenatum

In queste condizioni controllate il fungo raddoppia la sua massa ogni 5 ore.

A crescita avvenuta un foro sul fondo della vasca allontana il prodotto che viene poi depurato e trattato in modo da ottenere un solido giallo pallido con un vago sapore di funghi. In alcuni casi si sono registrate però delle allergie. Pertanto i soggetti che hanno avuto precedenti esperienze allergiche con funghi devono essere cauti.

SCP: funghi

Funghi : *Fusarium venenatum*

Il solido giallo è poi unito all'albume d'uovo che funziona come legante, aromatizzato e trattato in modo da dare l'impressione di un piatto di carne



SCP

Non tutti i microrganismi hanno la stessa resa produttiva in relazione alle proteine ottenute e possono anche avere velocità di crescita diverse.

In alcuni casi si possono avere delle complicazioni. Per esempio la presenza di acidi nucleici con pericoli metabolici nella alimentazione umana e animale. Oppure la produzione di sostanze tossiche.

La tabella successiva mette in evidenza vantaggi e svantaggi.

SCP

Microrganismo	Proteine %	Crescita	pH	Acidi nucleici	Altro
Alghe	basso				Difficoltà di estrazione dall'ambiente
Batteri	80	Elevata	5 - 7	si	Eventuale produzione di sostanze tossiche
Lieviti	60	Limitata	3,5 - 5	si ma in minore quantità rispetto ai batteri	Prodotti recuperabili più facilmente rispetto ai batteri più piccoli
Muffe	50	Bassa velocità di riproduzione ma veloce accrescimento	<5		Presenza di chitina nella parete, non digeribile

SCP

È importante lavorare in condizioni di pH tali da evitare il più possibile eventuali contaminazioni.

In questo senso i lieviti e le muffe sono più vantaggiosi perché consentono di avere pH acidi.

I terreni utilizzati sono per lo più scarti agricoli e zootecnici: metano, metanolo, siero di latte, residui della lavorazione del legno o di prodotti amidacei delle patate, melassi di barbabietola e canna da zucchero ...

Starter Lievito per panificazione

BioTechnologySanitarie.it

Starter

Altra importante produzione di biomasse microbiche sono quelle che contengono colture purificate o starter da usare nelle industrie alimentari.

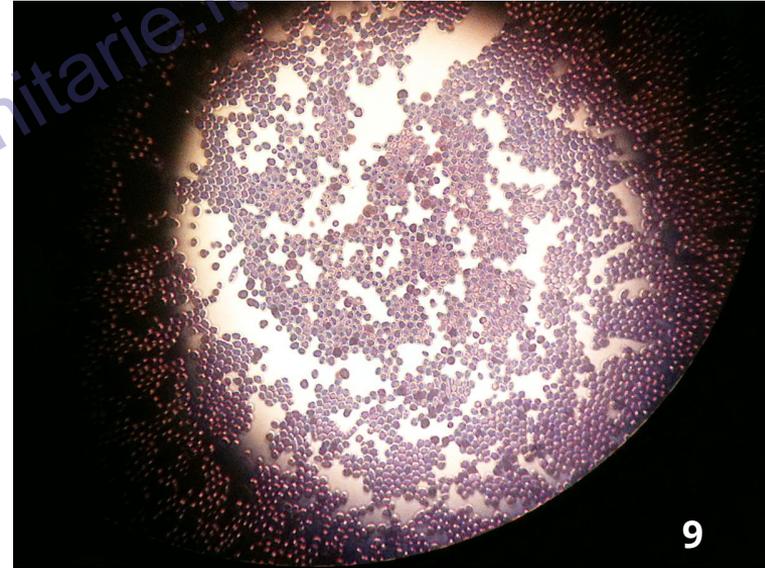
Parliamo per esempio del

Lievito per panificazione

Starter

Lievito per panificazione.

Il protagonista è sempre *Saccharomyces cerevisiae* che è un aerobio facoltativo. Quindi può effettuare un ciclo completo di respirazione cellulare fino ai prodotti finali (H_2O e CO_2) oppure fermentare il substrato con produzione di CO_2 e etanolo (CH_3CH_2OH)



Saccharomyces cerevisiae
al microscopio

Starter

Lievito per panificazione

Per la produzione della biomassa si preferisce avviare la respirazione cellulare e c'è un motivo preciso perché l'alta resa energetica è direttamente correlata alla attività riproduttiva.



Saccharomyces cerevisiae in panetto, pronto per la commercializzazione

Starter

Saccharomyces cerevisiae

Invece, il lievito messo in commercio dopo tale processo darà poi il meglio di sé nelle fermentazioni una volta miscelato con acqua e farina.



Lievitazione di un impasto di farina e acqua con *Saccharomyces cerevisiae*

Starter

Saccharomyces cerevisiae

Le fasi produttive seguono una procedura ormai standardizzata che ripercorre quanto già detto.

In più bisogna sottolineare altri due aspetti.

Primo. I primi stadi sono portati avanti in condizioni di semi-anaerobiosi allo scopo di non deprimere l'attività fermentativa per repressione degli enzimi responsabili. Bisogna salvaguardare le potenzialità per cui viene fatto crescere il lievito, cioè il suo uso futuro.

Starter

Saccharomyces cerevisiae

Secondo. Bisogna stare attenti all'effetto *Crabtree*. Se si supera la concentrazione di 50 g/L di glucosio si può incorrere nel blocco del ciclo di Krebs. È il substrato stesso ad intervenire reprimendo per lo più la sintesi degli enzimi coinvolti.

In questo caso anche se si aumenta la concentrazione di ossigeno non si risolve la situazione. Prevalde sempre la fermentazione.

Starter

Saccharomyces cerevisiae

Il terreno di coltura è il *melasso* che fornisce saccarosio e biotina.

L'azoto è fornito da sali di ammonio e urea. I nitriti e i nitrati non sono utilizzati dal lievito.

Temperatura: circa 30°C

pH: 4 - 4,5

Biomasse microbiche: starter

Saccharomyces cerevisiae

Schema produttivo:

1. coltura di laboratorio in agar malto
2. passaggio della coltura in terreno liquido (5 mL)
3. passaggio in fermentatore (volume da 100 L)
4. stadi successivi (i primi in anaerobiosi, gli ultimi in aerobiosi) in rapporto 1:5 o 1:10
5. sosta di 2 ore (maturazione cellulare)
6. separazione per centrifugazione, lavaggio delle cellule, crema, lievito compresso, confezionamento

Starter

Saccharomyces cerevisiae

In commercio troviamo:

- panetti di lievito compresso, da conservare in frigorifero a 4°C; shelf-life → circa 30 gg
- lievito essiccato e confezionato sottovuoto, da conservare a temperatura ambiente; shelf-life → circa 1 anno
- lievito liofilizzato da usare come integratore alimentare

Starter

Saccharomyces cerevisiae

Il lievito di birra sotto forma di compresse viene considerato un integratore alimentare. Fornisce un buon apporto del complesso delle vitamine B. Spesso questo gruppo è carente in chi pratica diete sbilanciate come quelle iperproteiche. Inoltre vengono assorbite meno quando si assumono sulfamidici, sonniferi o pillola anticoncezionale; quando si eccede in caffè, alcol o fumo; oppure quando si è stressati.

Starter

Saccharomyces cerevisiae

Le vitamine del gruppo B, che agiscono in sinergia tra di loro, sono coinvolte nel metabolismo, in particolare nella trasformazione dei nutrienti in energia. Sono fondamentali per il corretto funzionamento del sistema nervoso, dell'apparato gastrointestinale, della cute e dei capelli, della bocca, del fegato e degli occhi ...



Starter

Saccharomyces cerevisiae

Nel lievito di birra oltre che le vitamine del gruppo B sono presenti anche minerali come il selenio, il cromo, il fosforo, il potassio, il magnesio e aminoacidi essenziali.

Alla luce di queste considerazioni viene consigliato agli sportivi e alle persone convalescenti.

Insetticidi

Bacillus thuringiensis

BioTechnologySanitarie.it

Insetticidi

Colture insetticide da
Bacillus thuringiensis

B. thuringiensis è un batterio sporigeno che vive nel terreno. Produce endotossine, innocue per l'uomo ma letali per certi insetti (larve di zanzare e bruchi di lepidotteri)



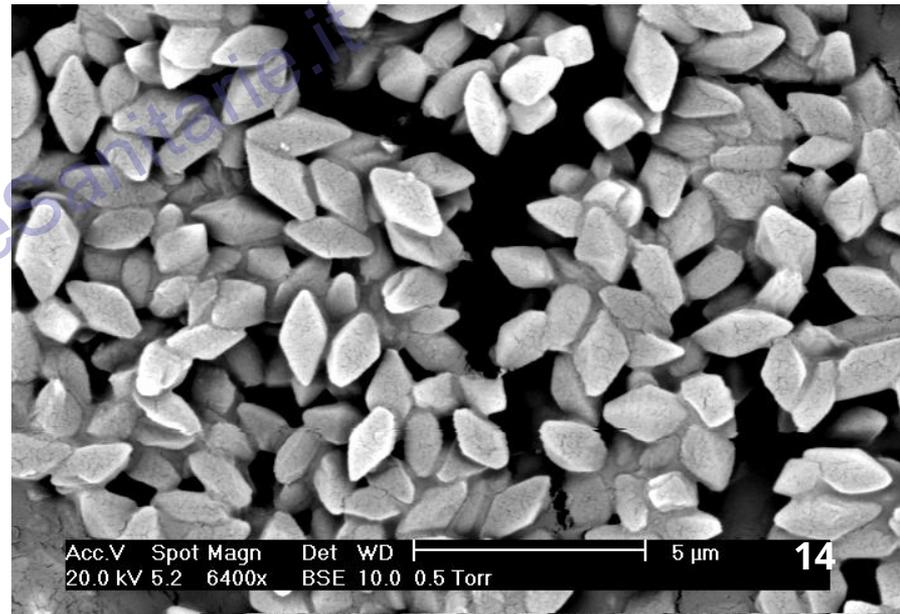
Bacillus thuringiensis al microscopio

Insetticidi

Colture insetticide da
Bacillus thuringiensis

Le tossine, contenute nei
cristalli visibili di lato, si liberano
per dissoluzione una volta
ingeriti dagli insetti quando
raggiungono l'intestino.

L'effetto è una forma di paralisi.



Insetticidi

Colture insetticide da
Bacillus thuringiensis

Se ne deduce che questo batterio può essere
utilizzato in agricoltura biologica contro
molti parassiti.

Diventa, se opportunamente moltiplicato, un
ottimo insetticida naturale. Nella foto: foglie
di piante di arachidi sotto attacco di insetti
(sopra) e dopo trattamento con Bt (sotto)



Insetticidi

Colture insetticide da *Bacillus thuringiensis*

Tutto ciò ha un grande beneficio ambientale considerato quanto sono dannosi i pesticidi di sintesi per l'ambiente (lunga persistenza nell'ambiente, ingresso nella catena alimentare e successivamente nel corpo umano).

La coltivazione del *B. thuringiensis* avviene su corn-steep liquor, prodotto della macerazione del mais.

Colture di Rhizobium



BioTechnologySanitarie.it

Biomasse microbiche: Rhizobium

Colture di Rhizobium

Il genere *Rhizobium* comprende diversi batteri che entrano nel ciclo dell'azoto; fissano l'azoto atmosferico e quindi lo trasformano da una forma gassosa ad una facilmente assimilabile dalle piante, come l'ammoniaca.



Noduli sulle radici di soia

16

Rhizobium

Colture di Rhizobium

La reazione è la seguente



Nitrogenasi

=



Rhizobium

Colture di Rhizobium

Perché avvenga la reazione di fissazione dell'azoto però è necessario che i batteri colonizzino un ospite. In genere una leguminosa, pianta a rapida crescita.

La colonizzazione avviene a livello delle radici. Si formano così i classici noduli, visibili nella foto.



17

Rhizobium

Colture di Rhizobium

Si forma una vera simbiosi a tutti gli effetti in cui entrambi gli organismi traggono vantaggi.

Il batterio ottiene dalla pianta carboidrati e proteine e la pianta l'azoto assimilabile.

Nella foto batteri del genere Rhizobium stanno per entrare in una cellula di pelo radicale di carota.



Rhizobium

Colture di Rhizobium

In genere questo tipo di batteri vive normalmente nel suolo nutrendosi di organismi in via di decomposizione e in queste condizioni non è in grado di fissare l'azoto.

Per farlo deve entrare nelle cellule delle radici delle piante attraverso i peli radicali (colonizzazione).

Si insedia nei noduli radicali e lì subisce una completa trasformazione in batteroide.

Rhizobium

Colture di Rhizobium

Infatti all'interno delle cellule vegetali i Rhizobium si ingrandiscono di circa 30 volte, assumono una forma ad Y o a clava, si contornano di una membrana plasmatica di origine vegetale.

Ha così inizio il rapporto simbiotico ma in questo stadio i batteri non si possono riprodurre.

Rhizobium

Colture di Rhizobium

Sembra che il 40% dei carboidrati prodotti dalla cellula vegetale attraverso la fotosintesi venga deviato verso i batteroidi che ne utilizzano il 75% per scindere il triplo legame della molecola di azoto gassoso.

Rhizobium

Colture di Rhizobium

Qui entra in gioco l'enzima citato nella reazione di azotofissazione: la nitrogenasi.

È la nitrogenasi a catalizzare la formazione di un composto a base di azoto facilmente assimilabile dalle piante ma questo enzima è anche molto sensibile all'ossigeno che con facilità lo neutralizza.

Tutto però è regolato da una interessante proteina, la leg-emoglobina che si lega all'ossigeno libero, lasciando così campo libero alla nitrogenasi.

Rhizobium

Colture di Rhizobium

La leg-emoglobina è una proteina simbiote in quanto il gruppo eme è sintetizzato dal batteroide mentre la parte globinica è prodotta dalla cellula vegetale.

L'intero processo è molto delicato e non è detto che in tutti i noduli radicali si attui alla fine il processo di azotofissazione che tra l'altro è molto importante per la fertilizzazione naturale del suolo.

Nel suolo esistono anche batteri liberi (Azotobacter e Clostridium) che portano avanti la stessa reazione.

Rhizobium

Colture di Rhizobium

La coltura dei batteri del genere Rhizobium avviene prima in aerobiosi per stimolare la crescita dei batteri stessi e poi in anaerobiosi per far sviluppare la nitrogenasi.

Si utilizza un brodo a cui si aggiunge torba sterile. Quindi all'insieme si uniscono i semi delle leguminose perché avvenga il processo di colonizzazione descritto precedentemente.

Rhizobium

Colture di Rhizobium

Esistono diverse specie di Rhizobium specifiche per le varie leguminose.

Per esempio il R. leguminosarum (nella foto su piastra) è specifico per piselli, trifoglio, veccia

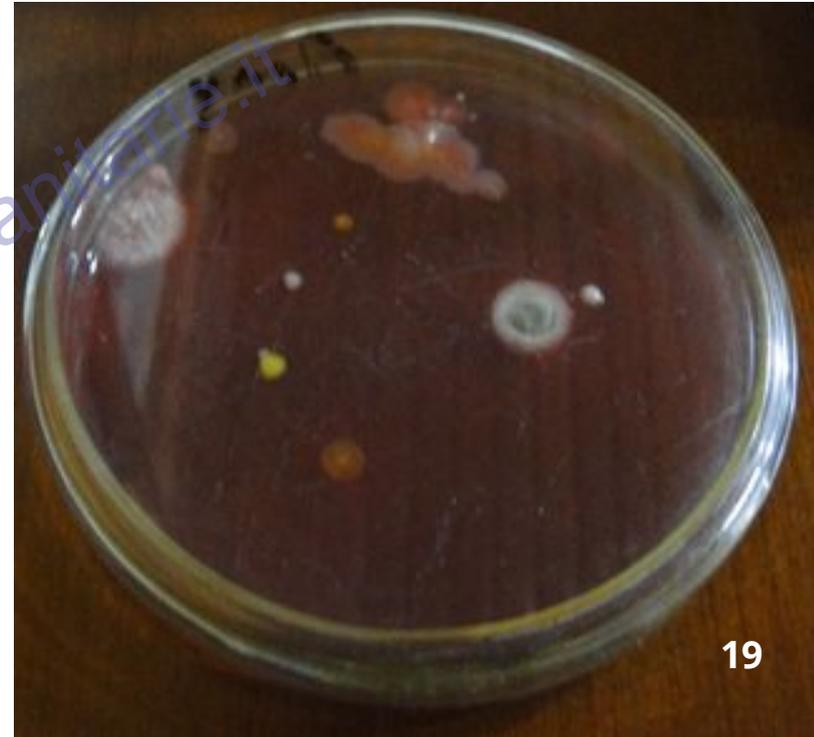


Photo credits (slide 4 - 30)

- 1 By Original uploader was Perdita at the English Wikipedia - Originally from the English Wikipedia; description page is/was here., Public Domain, <https://commons.wikimedia.org/w/index.php?curid=1408655>
- 2 By Kaori Kamata et al - <http://www.nature.com/articles/srep04919>, CC BY 3.0, <https://commons.wikimedia.org/w/index.php?curid=43996812>
- 3 By Joan Simon, cropped by Perdita (English Wikipedia User) - English Wikipedia, CC BY-SA 3.0, <https://commons.wikimedia.org/w/index.php?curid=1453154>
- 4 Par VladiDamian — Travail personnel, GFDL, <https://commons.wikimedia.org/w/index.php?curid=15822764>
- 5 Von Bob Blaylock - Eigenes Werk, CC BY-SA 3.0, <https://commons.wikimedia.org/w/index.php?curid=11456513>
- 6 Von LordToran - Eigenes Werk, CC0, <https://commons.wikimedia.org/w/index.php?curid=17502055>
- 7 By Source (WP:NFCC#4), Fair use, <https://en.wikipedia.org/w/index.php?curid=42498472>
- 8 By Jan Ainali - Own work, CC BY 3.0, <https://commons.wikimedia.org/w/index.php?curid=6546919>
- 9 By A doubt (Own work) [CC BY-SA 3.0 <http://creativecommons.org/licenses/by-sa/3.0>], via Wikimedia Commons
- 10 Di Hellahulla - Opera propria, GFDL, <https://commons.wikimedia.org/w/index.php?curid=3141947>
- 11 By Olivier Colas (<http://olouf.fr>) (Own work) [CC BY-SA 4.0 (<http://creativecommons.org/licenses/by-sa/4.0>)], via Wikimedia Commons
- 12 Immagine di proprietà dello Studio Associato R&D
- 13 By Dr. Sahay - Own work, CC BY-SA 3.0, <https://commons.wikimedia.org/w/index.php?curid=29339272>

Photo credits (slide 31 -45)

- 14** Di Jim Buckman is credited and the original uploader is P.R.Johnston. - w:en:Image:Bacillus thuringiensis.JPG, Pubblico dominio, <https://commons.wikimedia.org/w/index.php?curid=2471877>
- 15** By Herb Pilcher, USDA ARS - This image was released by the Agricultural Research Service, the research agency of the United States Department of Agriculture, with the ID K8664-1 (next).This tag does not indicate the copyright status of the attached work. A normal copyright tag is still required. See Commons:Licensing for more information.English | français | македонски | +/- This image was released by the Agricultural Research Service, the research agency of the United States Department of Agriculture, with the ID K8664-2 (next).This tag does not indicate the copyright status of the attached work. A normal copyright tag is still required. See Commons:Licensing for more information.English | français | македонски | +/-, Public Domain, <https://commons.wikimedia.org/w/index.php?curid=2147250>
- 16** Pubblico dominio, <https://commons.wikimedia.org/w/index.php?curid=52367>
- 17** Door Rasbak op de Nederlandstalige Wikipedia. CC BY-SA 3.0, <https://commons.wikimedia.org/w/index.php?curid=3194333>
- 18** De A. G. Matthyse, K. V. Holmes, R. H. G. Gurlitz - The White House, Dominio público, <https://commons.wikimedia.org/w/index.php?curid=34654351>
- 19** De Sgarrido94 - Trabajo propio, CC BY-SA 3.0, <https://commons.wikimedia.org/w/index.php?curid=22766757>