

Corso ecm: Shelf-life e campionamento ufficiale di alimenti
per analisi microbiologiche
Pisa, 13 dicembre 2012

Le conserve



Dr Roberto Fischetti - Istituto Zooprofilattico
Lazio e Toscana – Sezione di Pisa



SCOPO

Presentare i principali sistemi per stabilizzare microbiologicamente i prodotti alimentari, quindi per conservarli, al fine di un campionamento più efficace.

Schema della lezione

- ***Perché conservare gli alimenti?***
- ***Perché i prodotti gli alimenti sono deperibili ?***
- ***Cosa significa rendere conservabile un alimento ?***
- ***Su quali fattori intervenire ?***
- ***Tipologie di conservazione***
 - ***Sterilizzazione***

- *Perché conservare gli alimenti?*

Produrre grandi quantità da distribuire nel tempo (anche scorte) e da poter distribuire in località lontane

Ottenere prodotti particolari, più graditi del fresco: tonno in scatola, salmone salato affumicato, aringa, bottarga, caviale. Lo stoccafisso ed il baccalà, seppure consumati dopo reidratazione, appartengono comunque a questa categoria.

**Prolungare nel tempo l'utilità
di un lavoro faticoso,
concentrato in poco tempo e
che necessita di molto
personale**



- Perché gli alimenti sono (in genere) deperibili ?

✗ Sono ricchissimi di acqua, la cui disponibilità favorisce la proliferazione microbica. Non è sufficiente se: • • •

✗ Il pH inoltre è vicino alla neutralità.

✗ I batteri patogeni e alteranti, che sono molto esigenti sia rispetto alle sostanze nutritive presenti che all'acqua ed alle condizioni chimico-fisiche crescono, in genere, con $\text{pH} > 4,5$ e $a_w > 0.92$.

I lieviti e le muffe sono molto meno esigenti ed hanno una buona resistenza ai trattamenti.

Solamente i germi sporigeni dimostrano una resistenza alle alte temperature notevolmente superiore.

Queste differenze determinano i diversi tipi di trattamenti di stabilizzazione.

- Perché gli alimenti sono deperibili ?

Growth Factors For Selected Bacteria

ORGANISM	TEMP °C ^a	pH ^a	aw ^a
<i>Salmonella</i> spp.	5.2 / 35-43 / 46.2	3.8 / 7.0-7.5 / 9.5	0.94 / 0.99 / >0.99
<i>Clostridium botulinum</i>			
A & B	10 - 50	4.7 - 9	>0.93
nonproteolytic B	5 - ?	_b	NR ^c
E	3.3 - 15-30	_b	>0.965
F	4 - ?	_b	NR ^c
<i>Staphylococcus aureus</i>	7 / 37 / 48	4.0 / 6.0-7.0 / 10	0.83(0.9) / 0.98 / >0.99
<i>Campylobacter jejuni</i>	32 / 42-43 / 45	4.9 / 6.5-7.5 / ca9	>0.987 / 0.997 / -
<i>Yersinia enterocolitica</i>	-1.3 / 25-37 / 42	4.2 / 7.2 / 9.6	- / - / 5% NaCl
<i>Listeria monocytogenes</i>	-0.4 / 37 / 45	4.39 / 7.0 / 9.4	0.92 / - / -
<i>Vibrio cholerae</i> O1	10 / 37 / 43	5.0 / 7.6 / 9.6	0.970 / 0.984 / 0.998
<i>V. cholerae</i> non-O1	_b	_b	_b
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	5 / 37 / 43	4.8 / 7.8-8.6 / 11	0.940 / 0.981 / 0.996
<i>Clostridium perfringens</i>	4 / 43-47 / 50	5.5-5.8 / 7.2 / 8.0-9.0	0.97 / 0.95-0.96 / 0.93
<i>Bacillus cereus</i>	4 / 30-40 / 55	5.0 / 6.0-7.0 / 8.8	0.93 / - / -
<i>Escherichia coli</i>	ca7-8 / 35-40 / ca44-46	4.4 / 6-7 / 9.0	0.95 / 0.995 / -
<i>Shigella sonnei</i>	6.1 / - / 47.1	4.9 / - / 9.34	- / - / 5.18% NaCl
<i>Shigella flexneri</i>	7.9 / - / 45.2	5.0 / - / 9.19	- / - / 3.78% NaCl

a. minimum / optimum / maximum values.

b. The value, though unreported, is probably close to other species of the genus.

c. NR denotes that no reported value could be found, but for most vegetative cells, an aw of >0.95 would be expected.

USDA PMP

- Perché gli alimenti sono deperibili ?

Valori di pH e aw riscontrati in alcune matrici alimentari

ORDINE	ALIMENTO	AW	temp. °C	pH
carne lavorata	macinato	0,97	18,4	
	polpettone	0,962	24,3	5,74
	porchetta	0,959	19,2	
	preparato per crostino	0,971	17,6	5,16
	salsiccia	0,96		
	salsiccia	0,95		
	salsiccia	0,955	19,5	5,82
	salsiccia	0,961	25,2	
	mortadella	0,955	27,2	
	prosciutto	0,882	22,6	
carne conservata	prosciutto	0,934	18	5,67
	prosciutto	0,92	17,3	5,78
	prosciutto	0,905	18,1	5,85
	prosciutto	0,913	18,3	5,59
	prosciutto	0,911	17,4	5,99
	salame	0,903	16	
	salame	0,942	22	
	salame	0,865	23,5	6,42
	salame	0,911	25,4	
	salame	0,921	25	
	salame	0,906		5,4
	salame	0,91		5,81
	salame	0,915		5,1
	salame snack no pelle	0,878		5,5
	spalla	0,847	17,5	5,56
	speck (Germania)	0,926	18,5	5,88
	sopressata	0,959		6
	pancetta cubetti (Francis)	0,955		
	pancetta cubetti	0,949		
	wurstel suino	0,972	17,3	6,25
derivati del latte	burro	0,972	20,2	4,38
	burro danese	0,968	20,2	4,41



ORDINE	ALIMENTO	AW	temp. °C	pH
	yogurt	0,97		3,7 4,1
	yogurt 1% grasso prugna zucch	0,975	17,7	4,05
	yogurt frutti bosco	0,964	20,9	3,92
	yogurt crema albicocca	0,965	20,7	4,13
pasta	lasagne	0,966	19,8	5,9
	maionese tubo	0,942	19	
pane	panino morbido al latte	0,925	24,7	
	panino	0,956	24,9	
pesce	salmone affumicato	0,956	22,3	
	crema salmone affumicato	0,945	18,8	5,76
	crema salmone affumicato	0,947	19,3	4,97
	crema salmone affumicato			4,96
	ritagli salmone sottovuoto	0,954	19,6	6,15
	insalata di mare	0,965	19,6	4
	uova di lompo BIBITA (va)	0,97	19,07	4,78
frutta	gheriglio di noce stagionato	0,6	14,24	
bevande	Coca Cola			2,81
	succo di pomodoro San Marzano			4,4
	succo di pomodoro Canestrino			4,4
	marmellata cotogne casel	0,858	17,8	2,5
	marmellata lamponi casel	0,881		3,2

DATI IZS PISA

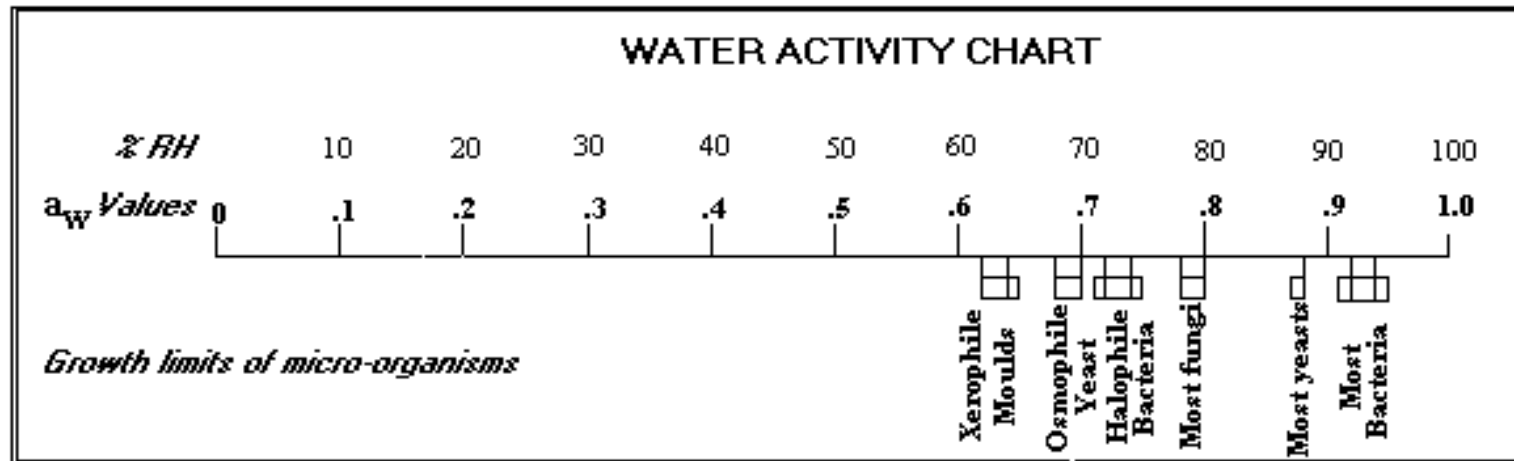
- Perché gli alimenti sono deperibili ?

The typical water activity of some foodstuffs:

AW

USDA PMP

Type of product	Water Activity (aw)
Fresh meat and fish	0.99
Bread	0.95
Aged cheddar	0.85
Jams and jellies	0.8
Plum pudding	0.8
Dried fruit	0.6
Biscuits	0.3
Milk powder	0.2
Instant coffee	0.2



- Perché gli alimenti sono deperibili ?

1	ALIMENTO	AW	temp. °C	pH	mv
2	salmone affumicato	0.956	22.3		
3	salmone affumicato	0.956	22		
4	salmone affumicato	0.966	21.4		
5	salmone affumicato	0.953	21.3		
6	crema salmone affumicata	0.945	18.8	5.76	
7	crema salmone affumicata	0.947	19.3	4.97	
8	crema salmone affumicata			4.96	
9	ritagli salmone sottovuoto	0.954	19.6	6.15	60
10	salsa salmone	0.947	19.3	4.97	
11	salsa salmone	0.945	18.8	5.76	
12	acciughe marinate	0.931	26.8		
13	insalata di mare	0.965	19.6	4	
14	insalata di polpo	0.958			
15	uova di lompo (semiconserva)	0.97		4.78	136
16	insalata di mare	0.968	23.1		
17	Insalata di mare	0.961		4.05	
18	Insalata di mare	0.959			
19	Insalata di mare	0.968			
20	insalata di mare	0.961	25.3	3.99	
21	salmone affumicato	0.953	23.1		
22	acciughe marinate	0.93		4.44	
23	filetti di alici marinate	0.78		5.74	
24	baccalà marinato	0.956		4.88	
25	acciughe fresche	0.967		6.3	
26	salmone affumicato	0.965	20.4	6.11	
27	insalata di mare	0.953	20.1	4.14	
28	salsa al salmone	0.958	18.8	5.83	
29	crema salmone affumicata	0.952	21.5	5.43	

DATI IZS PISA

- Cosa significa rendere conservabile un alimento ?

**BLOCCARE LA MOLTIPLICAZIONE MICROBICA -
principalmente batterica:**

- ✓ Uccidendo i microbi
- ✓ Rendendo l'ambiente sfavorevole alla proliferazione



- Su quali fattori intervenire ?

☐ TEMPO e fattori legati:

- ☐ Temperatura
- ☐ Aw
- ☐ pH
- ☐ Flora lattica
- ☐ Agenti conservanti
- ☐ Atmosfera di confezionamento

Flora lattica

Valori limite di **pH** e **aw** sono previsti nel 2073 poiché si possono determinare agevolmente attraverso misurazioni strumentali.

Uno dei fattori più importanti (**GENERALMENTE IL PRINCIPALE**) di contenimento della crescita di patogeni **NON ESPLICITAMENTE CONTEMPLATO NELLA NORMA** è l'attività dei **batteri lattici**, il cui impatto non è però facilmente prevedibile.

Il Regolamento 2073 prevede però che possa essere preso in considerazione dopo attenti studi.

Tutti questi fattori hanno effetto complementare sulla conservazione. Questo vuol dire che due o più fattori applicati contemporaneamente a livelli più blandi forniscono (a dati livelli) lo stesso effetto che si otterrebbe con un solo fattore applicato a livelli più drastici.

(hurdle technology)



Questo effetto è sfruttato regolarmente per produrre alimenti conservabili (con trattamenti delicati), che risultino ancora gradevoli da consumare.



Prodotti e fattori di controllo

- ❑ **TEMPO** : nei casi di parziale stabilizzazione la conservazione è in funzione del tempo
- ❑ **Temperatura**: alte temperature scatolame, basse temperature refrigerazione spesso in associazione o congelamento
- ❑ **Aw**: baccalà, stoccafisso, aringhe, bottarga, caviale
- ❑ **pH**: insalate di mare
- ❑ **Flora lattica**: salmone affumicato e simili in associazione a sale e fumo
- ❑ **Agenti conservanti**: gamberetti confezionati
- ❑ **Atmosfera di confezionamento**: molluschi freschi

Quindi la conservazione può essere ottenuta attraverso:

Fattori intrinseci al prodotto, cioè di composizione come lo zucchero, il sale, le sostanze che agiscono sulla proliferazione microbica

Fattori estrinseci come la temperatura, l'aria, il sole

Esempio di conservazione di un prodotto: **tortellini**

Il ripieno è formato da un misto di cotto e di crudo

La pasta esterna è cruda

Spesso vengono sottoposti a pastorizzazione, ma non sono sterili per cui si confezionano in atmosfera protettiva (muffe) e si conservano in refrigerazione (batteri)

I prodotti conservati

Conserva

Prodotto deperibile che ha subito un trattamento (in genere termico) tale da renderlo non deperibile e non nocivo per l'alimentazione umana, confezionato in modo da non permettere lo scambio di germi, gas, liquidi.

Esempi: Confezioni sterilizzate

Semiconserve

Se ottenute con congelamento, salatura o essiccamento possono in realtà essere a lungo stabili come le conserve

Se acidificate, fermentate, pastorizzate ($\text{pH} > 4.5$) sono meno stabili e devono essere refrigerate

Pastorizzazione

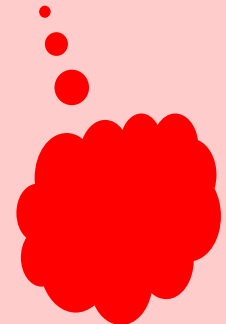
Permette l'inattivazione delle forme batteriche vegetative, lieviti e muffe

Sterilizzazione

Permette l'inattivazione anche delle spore batteriche

Tutti i tipi di trattamento non hanno effetto di inattivazione (microbica, ma anche enzimatica) immediato, ma progressivo.

Non si può quindi parlare, in teoria, di eliminazione totale dei microbi.



- *Tipologie di conservazione*

Refrigerazione

Sterilizzazione

- Refrigerazione

Per gli alimenti refrigerati con **più di 10 giorni di shelf-life**, per prevenire proliferazione e produzione di tossine di ceppi psicrotrofi (non proteolitici) di *C. botulinum*, **oltre alla refrigerazione** devono essere usati i seguenti fattori, da soli o in combinazione.

- ✓ Trattamento a 90°C per 10' (o equivalente)
- ✓ $\text{pH} \leq 5$
- ✓ NaCl in fase acquosa $\geq 3.5\%$
- ✓ $a_w \leq 0.97$
- ✓ Una combinazione dei vari fattori che garantisca la stessa sicurezza

- Sterilizzazione

Conserve acide

Caratterizzate da **pH \leq 4.5**

Conserve NON acide

Caratterizzate da **pH $>$ 4.5**

Clostridium botulinum
(tossina preformata)

C. botulinum gruppo I tipo A, B, F ceppi proteolitici: pH \geq 4.6, aw (0.94). Le spore sono molto più resistenti del gruppo II.

C. botulinum gruppo II tipo E, B, F: ceppi saccarolitici (NON proteolitici): psicrotrofi (3°C), pH > 5, aw (0.96) .

E' esclusivamente un problema legato alla conservazione sia di alimenti deperibili che di conserve in confezione

- Sterilizzazione

Clostridium botulinum
proteolitico

$A_w > 0.94$
 $pH > 4.6$

Marmellata ESEMPIO
 A_w **0.88**
 pH **3**

Scuola di Specializzazione in

ALIMENTAZIONE



ANNO ACCADEMICO

- Sterilizzazione

D o tempo di riduzione decimale = **TEMPO** in minuti per ridurre del 10% la popolazione microbica iniziale , cioè inattivare il **90%** della popolazione

Z = gradi di temperatura che fanno variare di **10** volte **D**

F₀ = **TEMPO** in minuti di sterilizzazione alla temperatura (di riferimento) di 121°C (121,11)

- Sterilizzazione

D o tempo di riduzione decimale = **TEMPO** in minuti per inattivare il **90%** della popolazione

C. botulinum max $D_{121^{\circ}}$ = 0.23'

C. sporogenes max $D_{121^{\circ}}$ = 1.5'

B. stearothermophilus max $D_{121^{\circ}}$ = 5'

ESEMPIO

A 121°C si ottiene 1 riduzione decimale delle spore più resistenti (ceppi proteolitici) di *C. botulinum* in 0.23 minuti.

Se nella produzione di scatolame abbiamo una contaminazione di 10 spore per confezione, dopo 0.23' (13.8'') rimane 1 spora, dopo ancora 0.23' rimangono 0.1 (1/10) spore e così di seguito; non rimane ovviamente un decimo di spora, ma il significato è che 1 confezione su 10 può essere contaminata.

- Sterilizzazione

Z = gradi di temperatura che fanno variare di **10** volte **D** .

Per *C. botulinum* il valore di Z è 10 per cui ogni 10°C di differenza di temperatura si ottiene lo stesso effetto con i seguenti trattamenti di sterilizzazione:

2.3 minuti a 111°C

0.23 minuti a 121°C

0.023 minuti a 131°C

Osservazione: la riduzione decimale non è lineare per cui 1°C di differenza determina una variazione del 24% del D.

- Sterilizzazione

F_0 = TEMPO in minuti di sterilizzazione alla temperatura (di riferimento) di 121°C (121,11)

Conserve normali $F_0 = 4 - 5.5$

Conserve tropicali $F_0 = 12 - 15$

ESEMPIO $F_0 = 4'$ corrisponde a (4' : 0.23' che corrisponde ad 1 D_{121°)
17.4 riduzioni decimali (D) per *C. botulinum* per cui se ho anche 1000 spore per scatola ho una riduzione tale da attendermi

$1000/10^{17.4} = 10^3/10^{17.4} = 10^{-14.4} = 0.0000000000000004$ confezioni non sterili

valutazione della sterilità

Trattamenti canonici: probabilità di sopravvivenza *C. botulinum* = $1/10^{36}$ g cioè 1 spora su una massa pari a 500 volte quella solare.

Massa solare $M_{\odot} = 1,9891 \times 10^{30}$ kg

Ermeticità

Nella sterilizzazione dello scatolame è importante l'ermeticità dei contenitori che non è assoluta. La probabilità che penetrino all'interno microorganismi (dopo immersione in acqua di raffreddamento) è in rapporto con la penetrabilità dell'elio:

$$P = N \times 10^6 \times V^3 \quad N = \text{concentrazione microbica (N/ml)} \quad V = \text{velocità di penetrazione dell'elio (ml/sec)}$$

Teoria. Nel 95% dei casi ci si aspetta da 1 a 3/1000 scatole non ermetiche

Pratica. $1/10^4 - 10^5$ scatole ricontaminate.

In acque ben disinfettate ($1 - 0,1/\text{ml}$ spore) $1/10^6 - 5/10^6$ scatole ricontaminate.

Non è possibile rilevare livelli così bassi di contaminazione (10^{-6} , 10^{-7}). Dalla distribuzione binomiale si ha che la relazione fra **campioni non sterili (Fns)** e la **probabilità P_0 di non riscontrarne 1 esaminando N campioni** è

$$Fns = 1 - P_0^{1/N} \quad \text{o anche} \quad N = \ln P_0 / \ln (1 - Fns)$$

Quante unità si devono analizzare per trovare unità non sterili (con $p=0,05$, 95%)?

[Prob scat contam](#)

Canned tuna altered by *Clostridium sporogenes*



Analyzed by IZSLT Pisa

- Sterilizzazione

Possibile spiegazione: *trattamento termico non sufficiente*

C. botulinum max $D_{121^{\circ}}$ = 0.23'

C. sporogenes max $D_{121^{\circ}}$ = 1.5'