

**ZANICHELLI**

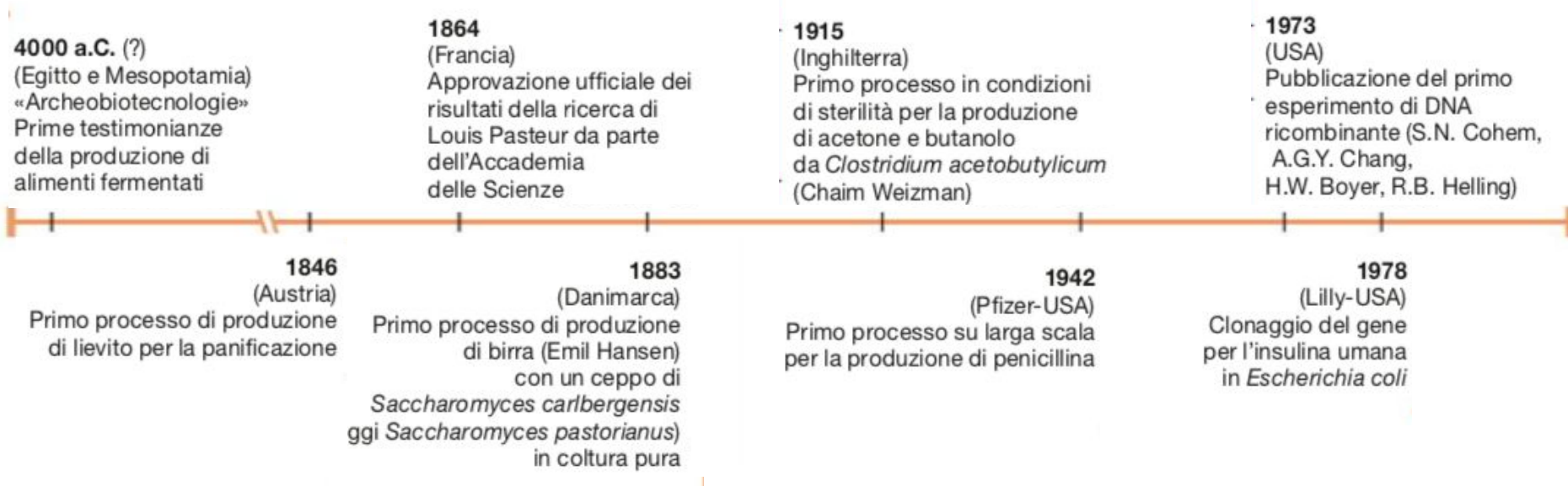
Fabio Fanti

**Biologia,  
microbiologia  
e tecniche di  
controllo sanitario**

## Capitolo 13

# Biotechnologie microbiche

# 1. Profilo storico e sviluppo delle biotecnologie



## Applicazioni delle biotecnologie microbiche

- Alimentare
- Ecologico
- Medico
- Chimico

## 2. Le biotecnologie delle fermentazioni

Studio dei modelli cinetici dello sviluppo microbico in relazione a come si consuma il substrato e si forma il prodotto.

### Fermentazione:

- in senso stretto, è un processo anaerobico che costituisce le fermentazioni alcolica, lattica, propionica, butirrica, acetone-butilica.
- in microbiologia industriale, si indicano con questo termine anche i processi utilizzati dai microrganismi per produrre sostanze di interesse.

#### Esempi di beni e servizi ottenibili dalle applicazioni biotecnologiche

Beni	Servizi
Biomasse microbiche impiegabili in nutrizione animale e umana	Trattamento di rifiuti liquidi e solidi
<i>Commodities</i> chimiche (acidi organici, alcuni aminoacidi)	Valorizzazione di residui agro-industriali
Specialità (antibiotici, vitamine)	Diagnostica (anticorpi monoclonali)
Inoculanti del suolo (azotofissatori) e delle piante (lotta biologica)	
Enzimi	
Probiotici e vaccini	

## 2. Le biotecnologie delle fermentazioni

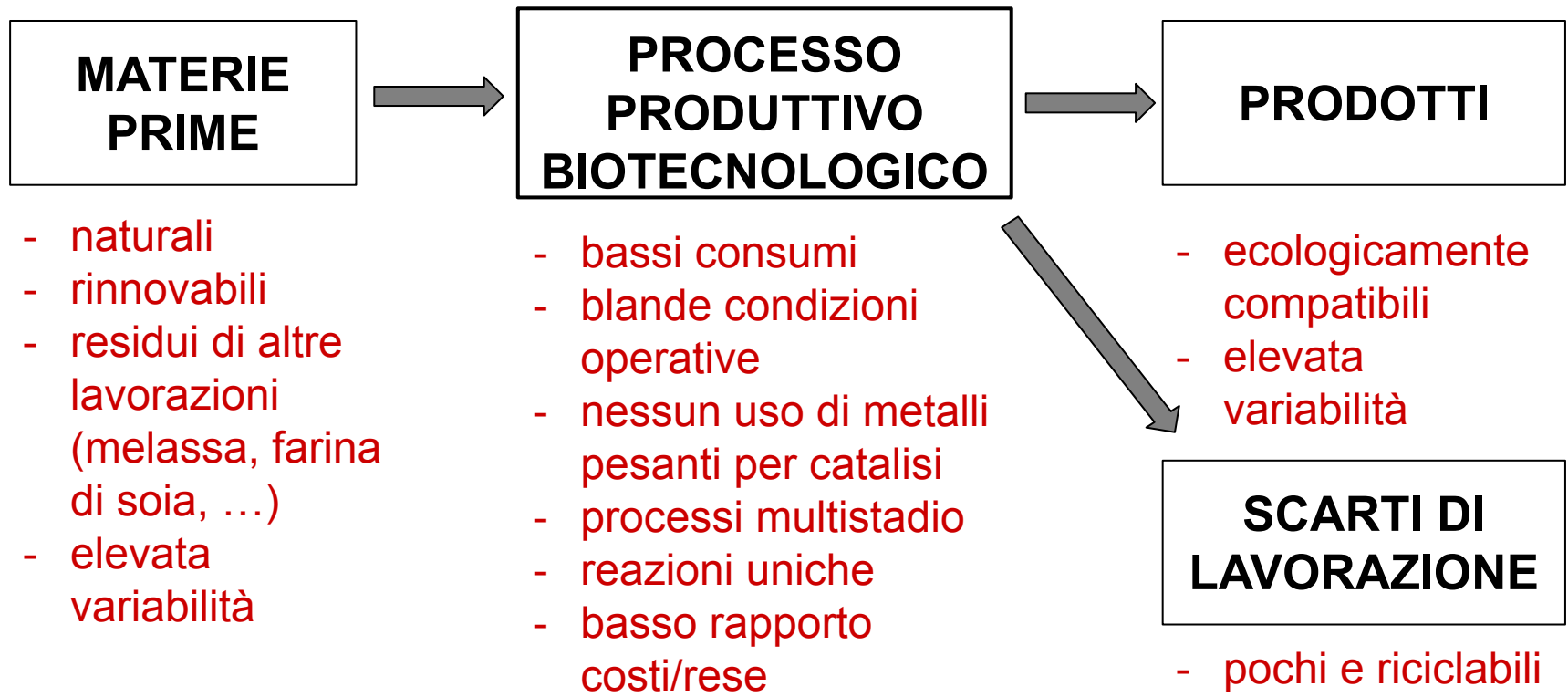
### Fasi di processo:

- *Upstream*: trasformazioni chimiche di fermentazione
- *Downstream*: tecniche per separare il prodotto di interesse.

### Componenti:

- Enzimi: biocatalizzatori molecolari, regolano ogni reazione chimica.
- Microrganismi: biocatalizzatori cellulari, producono le molecole di interesse, oppure costituiscono il prodotto finale
- Prodotti metabolici: unici (reazioni *omofermentative*) o più di uno (reazioni *eterofermentative*)

# 3. I vantaggi dei processi biotecnologici



## Criteri di scelta delle materie prime

costo, disponibilità, trasporto e stoccaggio, caratteristiche chimico-fisiche, rese, formazione di prodotti secondari, sicurezza

# 4. Biocatalizzatori cellulari: i microrganismi

Taxon	Genere	Prodotti/Servizi
Batteri	<i>Acetobacter</i>	Aceto; acido gluconico; acido ascorbico
	<i>Azotobacter</i>	Preparazione di colture azotofissatrici (libere); alginato
	<i>Bacillus</i>	Bacitracina, polimixina e altri antibiotici; amilasi, proteasi e pectinasi; colture insetticide; derivati nucleotidici; vaccini
	<i>Clostridium</i>	Butanolo, acetone, acidi butirico, acetico e propionico; vaccini; macerazione di fibre tessili
	<i>Corynebacterium</i>	Acido glutammico, lisina e altri aminoacidi; trasformazione di steroidi; derivati nucleotidici
	<i>Enterobacter</i>	Lisina; pullulanasi
	<i>Erwinia</i>	L-asparaginasi
	<i>Escherichia</i>	Acidi $\alpha$ -chetoglutarico e $\alpha$ -diamminopimelico; nucleotidi; L-asparaginasi; penicillina acilasi
	<i>Gluconobacter</i>	Aceto; acido gluconico; ossidazione di sorbitolo a sorbosio e di glicerolo a diidrossiacetone
	<i>Lactobacillus</i>	Acido lattico; settore lattiero-caseario; fermenti lattici; vegetali fermentati; foraggi insilati; stagionatura di insaccati
	<i>Lactococcus</i>	Nisina
	<i>Leuconostoc</i>	Destrano; diacetile; vegetali fermentati
	<i>Micrococcus</i>	Aminoacidi; stagionatura di insaccati
	<i>Nocardia</i>	Vitamina B <sub>12</sub> ; trasformazione di steroidi
	<i>Propionibacterium</i>	Acido propionico; vitamina B <sub>12</sub> ; emmenthal
	<i>Pseudomonas</i>	Vitamina B <sub>12</sub> ; trasformazione di steroidi
	<i>Rhizobium</i>	Preparazione di colture azotofissatrici (simbionti)
	<i>Streptococcus</i>	Settore lattiero-caseario; fermenti lattici; stagionatura di insaccati; diacetile
	<i>Streptomyces</i>	Tetracicline, eritromicina, streptomina, nistatina, neomicina, glucosio isomerasi e cheratinasi; trasformazione di steroidi; novobiocina e altri antibiotici; antitumorali; vitamina B <sub>12</sub> ; proteasi
	<i>Xantomonas</i>	Xantano
<i>Zymomonas</i>	Etanolo	



# 4. Biocatalizzatori cellulari: i microrganismi

Taxon	Genere	Prodotti/Servizi
Lieviti	<i>Ashbya</i>	Riboflavina
	<i>Candida</i>	Biomasse proteiche da carboidrati, <i>n</i> -paraffine, alcoli o per estrazione; lipasi
	<i>Kluyveromyces</i>	Lattasi; biomasse proteiche
	<i>Saccharomyces</i>	Bevande alcoliche; lievito per panificazione; etanolo; biomasse proteiche o per estrazione; invertasi
	<i>Rhodotorula</i>	Lipidi, carotenoidi, polisaccaridi
	<i>Yarrowia</i>	Amilasi; biomasse proteiche da <i>n</i> -paraffine; acido citrico
Muffe	<i>Acremonium</i>	Cefalosporine
	<i>Aspergillus</i>	Acidi citrico, gluconico, itaconico, fumarico; amilasi, proteasi, pectinasi, catalasi e glucosio ossidasi; cibi orientali
	<i>Blakeslea</i>	$\beta$ -carotene
	<i>Claviceps</i>	Derivati dell'acido lisergico
	<i>Cryphonectria</i>	Rennina
	<i>Cunninghamella</i>	Trasformazione di steroidi
	<i>Curvularia</i>	Trasformazione di steroidi
	<i>Fusarium</i>	Biomasse proteiche; trasformazione di steroidi; gibberelline (ormoni per le piante)
	<i>Myrothecium</i>	Cellulasi
	<i>Mucor</i>	Saccarificazione di materiali amidacei; cibi orientali; trasformazione di steroidi
	<i>Penicillium</i>	Penicilline; griseofulvina; ribonucleasi; settore caseario
	<i>Rhizomucor</i>	Rennina
	<i>Rhizopus</i>	Saccarificazione di materiali amidacei; acido fumarico; cibi orientali; trasformazione di steroidi; lipasi
	<i>Sclerotinia</i>	Pectinasi
<i>Trichoderma</i>	Cellulasi; ciclosporine	

## 4. Biocatalizzatori cellulari: i microrganismi

Taxon	Genere	Prodotti/Servizi
Funghi a carpoforo	<i>Agaricus</i>	Produzione di funghi
	<i>Lentinula</i>	Produzione di funghi
	<i>Morchella</i>	Preparazione di biomasse miceliari con aroma fungino
	<i>Pleurotus</i>	Produzione di funghi
	<i>Volvariella</i>	Produzione di funghi
Alghe	<i>Chlorella</i>	Biomasse proteico-vitaminico-minerali
	<i>Porphyra</i>	Preparazioni alimentari (Oriente)
	<i>Scenedesmus</i>	Biomasse proteico-vitaminico-minerali
	<i>Spirulina</i>	Biomasse proteico-vitaminico-minerali
	<i>Tolypothrix</i>	Preparazioni azotofissatrici

**MGM** (microrganismi geneticamente modificati): impiego regolato da legislazioni specifiche nei vari Paesi

**GRAS** (*generally recognized as safe*): classificazione FDA di microrganismi non modificati impiegati nelle produzioni alimentari

## 5. Utilizzo nelle biotecnologie delle cellule di mammifero

Le cellule di mammifero sono usate per la produzione di anticorpi, anticorpi monoclonali, vaccini, interferoni.

### Differenze con cellule di lieviti e muffe

- assenza di parete cellulare
- tempi di generazione più lunghi
- richieste nutritive e colturali precise e complesse:
  - miscele di aminoacidi purificati, basi azotate, sali minerali, vitamine, glucosio, siero bovino fetale;
  - temperatura =  $37 \pm 1^\circ\text{C}$ ;
  - pH =  $7,3 \pm 0,005$ ;
  - sostanze antimicrobiche

# 6. I prodotti della microbiologia industriale

1. **Metaboliti primari**
2. **Metaboliti secondari**
3. **Biomasse microbiche**
4. **Enzimi**
5. **Prodotti complessi**
6. **Prodotti da bioconversioni**

# 6. I prodotti della microbiologia industriale

## 1. Metaboliti primari

- Essenziali per la vita delle cellule
- La produzione si verifica nella maggior parte dei casi durante la prima fase di crescita esponenziale dei microrganismi (*trofofase*), in alcuni casi durante la fase stazionaria (*idiofase*)
- Prodotti:
  - Finali del metabolismo anaerobico (etanolo, mannitolo, acidi lattico, butirrico, propionico, acetico)
  - Intermedi del metabolismo aerobico (acidi citrico, fumarico, glutammico, glicerolo)
  - Molecole-base per la sintesi di macromolecole complesse (vitamine, aminoacidi, nucleotidi, proteine, lipidi, carboidrati)

# 6. I prodotti della microbiologia industriale

## 2. Metaboliti secondari

- NON Essenziali per la vita delle cellule
- La produzione si verifica durante l'*idiofase*
- Funzioni: protezione da agenti fisici, comunicazione tra cellule, antagonismo

Molecola	Attività
Penicillina, tetraciclina, eritromicina, vancomicina, daptomicina	Antibatterica
Daunomicina, bleomicina, calicheamicina, mitomicina	Antitumorale
Amfotericina, echinocandina	Antifungina
Ciclosporina, tacrolimus, rapamicina	Immunosoppressiva
Lovastatina, acarbosio	Farmacologica
Avermectina, monensina	Veterinaria
Poliossina, bialafos, blastacidina, spinosina	Agronomica

# 6. I prodotti della microbiologia industriale

## 3. Biomasse microbiche

- il prodotto si identifica con il produttore

Molecola	In funzione del contenuto	In funzione dell'attività
Funghi superiori commestibili	Impiego integrale	
Biomasse per dietetica		
Alghe		
Biomasse proteiche per mangimistica		
Lisati di lieviti	Impiego per estrazione	
Estratti proteico-vitaminici		
Lipidi		
RNA e derivati		
Lievito per panificazione		Substrati o ambienti complessi
Starter		
Fermenti lattici		
Colture azotofissatrici		
Colture insetticide		
Vaccini		
Colture per fanghi attivi		
Molecole particolari da bioconversioni microbiche		Biomasse impiegabili in biotrasformazioni

# 6. I prodotti della microbiologia industriale

## 4. Enzimi

- normalmente repressi e/o inducibili
- intracellulari, extracellulari o di superficie
- grazie alle biotecnologie è possibile trasferire geni per la sintesi di enzimi da un organismo all'altro.



# 6. I prodotti della microbiologia industriale

## 5. Prodotti complessi

- tutta la massa di substrato si trasforma in prodotto

Molecola	Categoria
Bevande alcoliche	Preparazioni alimentari
Aceto	
Tipi di latte fermentato	
Prodotti caseari	
Cibi orientali fermentati	
Tipi di latte fermentato	
Vegetali fermentati (crauti, olive ecc)	Conservazioni alimentari
Foraggi insilati	
Stagionatura di carni insaccate	
Macerazione di fibre tessili (canapa, lino, iuta)	Lavorazioni diverse
Trattamento di rifiuti liquidi e solidi	

# 6. I prodotti della microbiologia industriale

## 6. Prodotti da bioconversioni

- Modalità di utilizzo di microrganismi, impiegati come intermedi in processi di sintesi chimica.
- Reazioni: ossidazioni, riduzioni, isomerizzazioni.
- Esempi:
  - bioconversione di steroidi,
  - produzione di vitamina C.

# 7. Rese e isolamento dei prodotti

## Coefficiente di resa o resa di conversione (Y)

$$Y = \frac{\text{prodotto formato}}{\text{substrato consumato}}$$

Valori medi: 0,5 (Per acidi organici: 0,7 - 0,9)

## Resa di fermentazione (g/L)

Grammi di prodotto in meso secco per L di brodocoltura

Valori medi:

- 150-200 per acidi organici
- 100-200 per vitamina B12
- 20-60 per produzione di biomasse
- 50 per penicillina

# 7. Rese e isolamento dei prodotti

## Resa di estrazione e purificazione

Quantità di prodotto finito in rapporto a quella presente alla fine del ciclo fermentativo precedente la purificazione.

Procedure di estrazione e purificazione usate:

1. Filtrazione o centrifugazione della brodocoltura (per separare le cellule (filtrato colturale) dal terreno residuo)
2. Recupero del prodotto:
  - a. separazione delle biomasse per filtrazione e lavaggio
  - b. separazione dei metaboliti per filtrazione, estrazione e purificazione
  - c. recupero dalla frazione proteica per enzimi