

MICROBIOLOGIA AMBIENTALE

Biodiversità

Varietà tra gli organismi viventi, provenienti da ecosistemi terrestri, marini e da altri ecosistemi acquatici, nonché dei complessi ecologici di cui fanno parte. Ciò include la diversità entro le specie, fra le specie e la diversità degli ecosistemi.

La diversità microbica

L'insieme delle differenze e delle relazioni che esistono nel mondo microbico. La diversità microbica descrive la complessità degli ambienti a due livelli:

1. **Genetico:** con la struttura tassonomica, le OTU, il loro numero (la ricchezza) e la loro abbondanza relativa (l'uniformità). OTU = unità di tassonomia operativa, definita sulla base di sequenze conservate.
2. **Funzionale:** con la definizione dei gruppi responsabili di attività metaboliche specifiche

La diversità microbica si divide in due tipi di diversità:

- **Diversità Filogenetica**, che riguarda le relazioni e le distanze evolutive tra i microorganismi.

Si divide a sua volta in:

- Diversità genetica;
- Diversità genomica

- **Diversità funzionale**, che riguarda le relazioni e le differenze di forma e funzione tra i microrganismi relativamente alla fisiologia e all'ecologia. Si divide a sua volta in:

- Diversità ecologica
- Diversità metabolica
- Diversità fisiologica
- Diversità morfologica

Chi sono i microbi?

Microbo, termine col quale nel linguaggio comune si intendono i batteri e altri microrganismi patogeni. Nome comprensivo, e non corrispondente ad alcun gruppo tassonomico ben definito, con cui si indicano tutti gli *organismi di dimensioni così piccole da essere visibili soltanto al microscopio*: quindi i protozoi, i batteri, i virus, le alghe unicellulari, nonché talvolta alcuni dei metazoi e metafiti di dimensioni più esigue.

La più piccola forma microbica nota è il **circovirus** (20nm), mentre il microrganismo più grande è il batterio ***Epulopiscium*** (700 um). Tipo ***E. Coli*** è (2 um x 0,5 um).

I BATTERI

Sono organismi procarotici, generalmente unicellulari. Possono essere:

- **Fototrofi**, cioè usano come fonte di energia luce o composti chimici
- **Chemiotrofi**, cioè usano sostanze chimiche per produrre energia. Da un comportamento chemiotrofico ci si aspetta un comportamento che può essere:
 - **Organotrofi**, ovvero usano sostanze organiche per produrre energia
 - **Litotrofi**, ovvero usano sostanze inorganiche per produrre energia
- **Autotrofi**, cioè organismi che non necessitano di composti organici per la loro crescita; tipo le piante
- **Eterotrofi**, ovvero usano composti organici per la loro crescita

- **Aerobi**, ovvero usano l'ossigeno come accettore di elettroni per la respirazione cellulare. Non vivono senza in ambienti senza ossigeno
- **Anaerobi**, cioè non usano l'ossigeno ma altri accettori di elettroni, come ferro o zolfo. Vivono in assenza di ossigeno

Sono mediamente molto versatili e poco esigenti dal punto di vista nutrizionale. Il *pH ottimale* per la crescita è intorno alla neutralità, mentre la *temperatura ottimale* per la crescita è intorno ai 30°, anche se esistono molte eccezioni.

Possono essere riconosciuti sulla base delle piccole dimensioni delle loro cellule, in qualche caso *mobili o dotate di spore* (**bacilli** e clostridi).

Su terreno solido formano colonie di dimensione, forma, colorazione e cremosità che cambiano in maniera specifica in base alle specie.

Sono molto diffusi nell'ambiente e per questo definiti ubiquitari. Hanno un ruolo di primo livello nei cicli elementari: carbonio, azoto, zolfo, fosforo, ferro, ecc... Sono fondamentali nei processi di biodegradazione di inquinanti organici nei suoli e nelle acque contaminate.

SPORE

Le spore batteriche sono forme cellulari specializzate per la sopravvivenza anche in condizioni ambientali avverse. Sono metabolicamente inattive: vita latente

Fra i produttori di endospore, i generi più importanti sono: *Bacillus* e *Clostridium*

L'inizio della sporulazione è influenzato dall'esaurimento dei nutrienti.

ATTINOMICETI: Proprietà fisiologiche e caratteristiche degli attinomiceti

Sono **Batteri** Gram positivi ad alto contenuto in GC, spesso costituiti da pseudomiceli a base di cellule procariotiche. Sono di norma chemiotrofi, eterotrofi aerobi.

Sono mediamente molto versatili e poco esigenti dal punto di vista metabolico/nutrizionale.

Il pH ottimale di crescita è intorno a 7 e la temperatura intorno ai 30°C.

Sono molto diffusi nell'ambiente ed in particolare nel suolo. **Possono produrre antibiotici.**

Sono spesso riconoscibili in base alla forma del micelio aereo e alle loro spore. Su terreno solido danno colonie di aspetto "vellutato" e dimensione maggiore rispetto agli altri batteri.

Esempi:

Streptomyces produzione di antibiotici, B12, amminoacidi, conversione di steroidi

Nocardia B12, conversione di steroidi.

Finisci

GLI ARCHEA.. fai

Archaea alofili estremi e il genere *Halobacterium*:

Gli alofili vivono ad elevate concentrazioni saline.

La parete cellulare contiene glicoproteine che sono stabilizzate dalla presenza di ioni Na⁺ che risultano fondamentali per l'integrità cellulare.

Per mantenere l'equilibrio osmotico in ambienti ipersalini è necessario che vengano sintetizzati o accumulati soluti all'interno della cellula. *Halobacterium* pompa grandi quantità di K^+ nel citoplasma.

Batteriorodopsina

Alcune specie di haloarchaea possono produrre ATP sfruttando la radiazione luminosa. Questo sistema è disgiunto dalla fissazione di CO_2 e non necessita di clorofilla. È un sistema diverso dalla fotosintesi.

In condizioni di carenza di O_2 *Halobacterium* sintetizza una proteina chiamata *batteriorodopsina* coniugata ad una molecola di retinale che le conferisce un colore porpora.

EUCARIOTI: FUNGHI: LIEVITI

I lieviti hanno una parete cellulare molto spessa, composta da:

- 50% glucani
- 2% chitina
- 40% monnoproteine (cariche, possono determinare la flocculazione; che è importante nella produzione della birra).

Il ciclo vitale del lievito

I lieviti presenti in natura sono solitamente **diploidi** e si riproducono per via asessuata, ovvero per gemmazione o per mitosi. (Plodia: numero di copie del corredo cromosomico (n)).

Es: *Saccharomyces cerevisiae* ha 16 cromosomi; le cellule di *Homo sapiens* contengono 23 cromosomi.

Alcuni lieviti possono anche essere tetraploidi (4n) o ottaploidi (8n) ma anche aploidi(n). Questi si riproducono per riproduzione sessuata: fusione di due cellule sessualmente compatibili seguita dalla fusione dei due nuclei zigote diploide. Successivamente per meiosi si ripristina lo stato aploide della cellula ed infine lo sviluppo di un nuovo elemento fungino aploide.

Il ciclo:

1. **Diplofase:** le cellule diploidi si riproducono per mitosi;
2. **Aplofase:** le cellule aploidi (a o α) si riproducono per mitosi;
3. **Sporulazione:** le cellule diploidi si dividono per meiosi;
4. **Incrocio:** coniugazione delle cellule aploidi a formare lo zigote.

Le SPORE sono contenute in **ASCHI**. Da qui, il nome Ascomiceti.

Due cellule aploidi possono coniugarsi solo col **mating type** opposto: $a+\alpha$. Il mating type di una cellula deriva dall'espressione dei geni **MAT a** o **MAT α** sul cromosoma III. I geni codificano per **Feromoni** (a o α) per i quali sono presenti recettori specifici.

FUNGHI: MUFFE

Sono organismi eucariotici pluricellulari. Sono di norma chemiotrofi eterotrofi aerobi. Sono saprofiti e in qualche caso in grado di produrre tossine pericolose (es. aflatossine) per l'uomo e per le piante. Possono causare malattie (micosi).

Sono mediamente molto versatili e poco esigenti da un punto di vista metabolico: utilizzano per la crescita proteine e carboidrati semplici, richiedono un pH acido (5) e temperature di 25°C.

Su terreno solido formano colonie di dimensione notevole, appiattite, colorate in maniera marcata e variabile nel tempo, di aspetto vellutato. Sono molto diffusi nell'ambiente, anche in quelli domestici, dove vi è un po' di umidità.

Importanti perché possono produrre antibiotici. Si ritrovano nei cereali e nei loro derivati, nei prodotti lattiero caseari, nelle carni e prodotti di salumificio, nei semi, nella frutta, nella verdura, nella frutta secca, nelle marmellate e nelle bevande. Hanno un ruolo importante anche nella biotrasformazione enzimatica di inquinanti organici e metalli pesanti.

Un'ifa fungina

Le ife sono prodotte dai funghi. Queste sono spesso dotate di setti con pareti trasversali che le suddividono in cellule separate. Le cellule di un ifa possono contenere più di un nucleo. Formano una rete di filamenti chiamati ife che crescono formano una struttura intricata chiamata micelio. Dal micelio si originano le ife aeree da cui si formano i conidi (spore asessuate).

PROTOZOI

Sono organismi **eucariotici unicellulari**, sovente mobili (flagelli e ciglia). Sono di norma chemiotrofi eterotrofi aerobi e si nutrono per inclusione o ingestione. In qualche caso sono patogeni per l'uomo.

Sono mediamente molto versatili e poco esigenti da un punto di vista metabolico: utilizzano per la crescita proteine e carboidrati semplici, richiedono un pH acido (5) e temperature di 25°C.

Sono molto diffusi nell'ambiente, soprattutto negli habitat ricchi di acqua. Hanno un ruolo importante nel processo di depurazione delle acque, essendo componenti essenziali dei fanghi attivi di depurazione.

LE MICROALGHE

Sono organismi **eucariotici unicellulari**, sovente mobili (flagelli) o coloniali o pluricellulari. Sono di norma *fotosintetiche*, autotrofe, ossigeniche aerobiche (ma possono essere anche eterotrofe - mixotrofia).

Sono mediamente molto versatili e poco esigenti da un punto di vista metabolico.

Sono molto diffuse nell'ambiente, soprattutto negli habitat ricchi di acqua ma si possono trovare diffuse nell'aria (sospese nelle gocce di vapore o nella pioggia) come ad esempio *Chlorella* o *Haematococcus pluvialis*. In alcuni ambienti estremi (es. climi rigidi) possono trovarsi alghe endolitiche che vivono in rocce porose (sono scaldate dal sole e trattengono l'umidità).

Nelle colonie di *Volvox* sono presenti centinaia di cellule flagellate connesse da sottili fasci citoplasmatici, alcune cellule sono mobili e fanno fotosintesi, altre sono specializzate nella riproduzione. Il 30% del peso secco di *Botryococcus braunii* è costituito da idrocarburi (C₃₀-

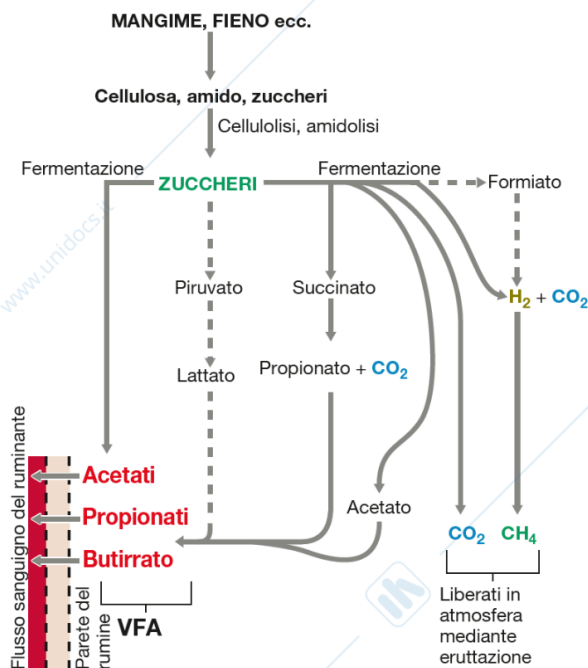
C₃₆). Scrivi questa cosa daal foto sotto.

Non presente su appunti

MICROBIOTA DEL RUMINE

Il rumine è un organo del tratto digerente dei ruminanti in cui la fibra ingerita dall'animale viene degradata e fermentata attraverso una serie di reazioni mediate da microrganismi.

All'interno del rumine avvengono diverse reazioni, mediate da diversi gruppi di microrganismi: l'animale mangia (ingerisce cellulosa e amido solitamente), e successivamente, attraverso la parete del rumine vengono assorbiti e poi versati nel circolo ematico e utilizzati per vari scopi.



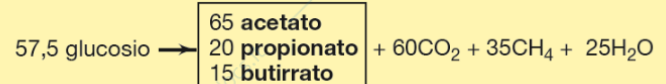
Metanogenesi ruminale:

Nell'ambiente anaerobico del **rumine** i carboidrati, fibrosi e non, sono degradati ad acido piruvico e successivamente ad acidi grassi volatili: acetico (C2), propionico (C3) e butirrico (C4), spesso presenti nella forma dei rispettivi sali (acetato, propionato, butirrato).

Questi vengono poi assorbiti attraverso la parete ruminale ed entrano in circolo ematico fornendo così energia al ruminante. Esiste però una sostanziale differenza tra la produzione di acetato e butirrato da un lato e la produzione di propionato dall'altro lato: la prima libera ioni idrogeno (H⁺) nel rumine, la seconda li sottrae.

In assenza di ossigeno, il recettore finale degli H⁺ è il carbonio, con conseguente formazione di **metano**.

Stechiometria complessiva della fermentazione del rumine:



Il microbiota ruminale è un ambiente complesso in cui diversi gruppi microbici interagiscono tra loro. Diversi gruppi di microrganismi possono prendere parte allo stesso processo (tipo la fermentazione), quindi un processo può essere operato da più microrganismi.

I batteri sono il 50 -75% della comunità microbica ruminale e prendono parte a molti processi legati alle fermentazioni ruminali. Insieme anche agli archaea, funghi e protozoi, in minor quantità.

Batteri

I batteri sono principalmente coinvolti nella degradazione e fermentazione degli animali ingeriti dall'animale. Possono essere suddivisi:

- Popolazioni associate alla **fase liquida**
- Popolazioni associate alla **fase solida**
- Popolazioni associati **all'epitelio**
- Popolazioni associati agli **eucarioti**

Nel rumine troviamo molte popolazioni batteriche. Ai batteri ruminali possono essere associate diverse funzioni:

- Degradazione della cellulosa
- Degradazione dell'emicellulosa
- Fermentazione della pectina
- Degradazione dell'amido
- Lipolisi
- Proteolisi

Molti batteri sono coinvolti nella produzione di acidi grassi volatili.

BIOIDROGENAZIONE

La bioidrogenazione è un processo biologico ed è la *progressiva isomerizzazione e saturazione degli acidi grassi insaturi* che viene effettuata dai microrganismi ruminali.

Gli **acidi grassi** sono acidi monocarbossilici alifatici.

Possono essere classificati in:

- **Acidi grassi saturi** (es. acido stearico, C18:0). Non sono presenti doppi legami.
- **Acidi grassi monoinsaturi** (es. acido oleico, C18:1). È presente un doppio legame C=C.
- **Acidi grassi polinsaturi** (es. acido linoleico, C18:2). Sono presenti due o più doppi legami C=C.

Gli **acidi grassi insaturi** possono essere suddivisi in funzione della configurazione del doppio legame → CIS o TRANS.

Acidi grassi ed effetti sulla salute:

Un eccessivo consumo di acidi grassi saturi può portare ad un aumento dei livelli di trigliceridi, di colesterolo e del rapporto LDL/HDL nel sangue. Aumento dell'insorgenza di patologie cardio vascolari → un aumento dell'insorgenza di patologie cardio vascolari può essere associato anche ad un eccessivo consumo di alcuni acidi grassi insaturi con doppi legami in configurazione trans (*trans fatty acids*, TFA).

Come si originano gli acidi grassi in configurazione trans?

- **Processi industriali** → Un'importante fonte di TFA è rappresentata dalla parziale bioidrogenazione degli acidi grassi insaturi di origine vegetale.
- **Bioidrogenazioni ruminali** → All'interno del rumine, alcuni batteri riducono gli acidi grassi polinsaturi presenti nella dieta dell'animale formando intermedi con un minor numero di doppi legami C-C.

Acidi grassi prodotti durante le bioidrogenazioni nei ruminanti

I grassi (o lipidi) della dieta vengono modificati dai microrganismi presenti nel rumine attraverso la bio-idrogenazione, mediante la quale, si producono acidi grassi insaturi tipo trans, viene alterata la lunghezza della catena, i doppi legami diventano singoli e, se il processo è completo, tutti gli acidi grassi insaturi diventano saturi.

La variabilità della bio-idrogenazione dipende dal grado di insaturazione degli acidi grassi, dal loro livello nella dieta e dalla frequenza di assunzione di alimento. Un sistema di allevamento di tipo estensivo con impiego del pascolo garantisce una maggiore presenza nel latte e nella carne di acidi grassi polinsaturi (serie omega 3 e omega 6) e di derivati dell'acido linoleico (CLA).

Quando si valutano gli effetti sulla salute dei TFA è importante considerare la posizione del doppio legame (l'effetto dipende dalla posizione del doppio legame).

POLIFENOLI

Con il termine polifenoli si fa riferimento a un vasto gruppo di sostanze organiche naturali.

I polifenoli più diffusi in natura sono i **flavonoidi** (es. tannini condensati – tannini di quebracho); e i **non flavonoidi** (es. tannini idrolizzabili – tannini di castagno)

L'uso di polifenoli come integratori nell'alimentazione dei ruminanti può migliorare produzione, impatto ambientale e benessere animale. Infatti, una fonte di polifenoli per l'alimentazione animale sono i sottoprodotti dell'industria agroalimentare.

Si usano per l'alimentazione dei bovini ruminanti, perché:

- Modulano la produzione enterica del metano
- Riducono l'impatto ambientale
- Si avrà una modulazione della fermentazione e della bio-idrogenazione
- Si avrà anche il miglioramento della qualità degli alimenti di origine animale.

Effetto dei polifenoli sulle bioidrogenazioni:

Gli effetti dei polifenoli sulle bioidrogenazioni ruminanti possono essere diversi in funzione di *specie*, *origine* dei polifenoli e *quantità* nella dieta. In generale è possibile osservare una diminuzione degli acidi grassi saturi e un aumento degli acidi grassi con potenziali effetti positivi sulla salute.

Conclusioni

- I polifenoli possono avere un effetto sul microbiota ruminale.
- Il microbioma ruminale è un ecosistema complesso in cui diversi batteri sono in grado di bioidrogenare gli acidi grassi insaturi presenti nella dieta dell'animale.
- Prodotti di scarto di produzioni tipiche toscane (olio di oliva, castagne) possono essere fonte di polifenoli per l'alimentazione animale
- L'uso di diete addizionate di polifenoli per l'alimentazione dei ruminanti può portare ad un arricchimento di acidi grassi insaturi funzionali
- È possibile modulare le fermentazioni ruminanti per arricchire i prodotti di origine animale molecole con proprietà nutra ceutiche.

Archea

Rappresentano meno dell'1% dei microrganismi del rumine. Consumano l'H₂ e la CO₂ prodotti durante le fermentazioni ruminali e producono CH₄. Possono vivere in simbiosi con i protozoi.

Oltre all'H₂ i metanogeni possono usare anche formiato (CHOO⁻), metanolo (CH₃OH) e acetato (CH₃COO⁻) come substrati.

La metanogenesi

La metanogenesi ruminale può portare a diversi problemi:

- Il metano è un gas serra e contribuisce al surriscaldamento globale;
- La produzione di metano porta ad una perdita di energia per l'animale (2-12%).

Protozoi

I protozoi rappresentano circa il 50% della biomassa microbica del rumine. Sono molto mobili e possono ingerire particelle di cibo e batteri. Svolgono un riposo importante nella fermentazione producendo acetato, butirrato e H₂.

Funghi

I funghi anaerobici svolgono un ruolo importante nel rumine essendo molto efficienti nella degradazione della fibra perché possiedono un gran numero di enzimi idrolitici.

Fattori che influenzano il microbiota ruminale

Diversi fattori possono influenzare la composizione del microbiota ruminale:

- **Micro ambiente** —> per esempio pH bassi possono avere un effetto negativo sui microrganismi;
- **Macro ambiente** —> per esempio la posizione geografica, il metodo di allevamento, la stagione o anche il tipo di dieta;
- **Ospite** —> possono esserci variazioni tra individui della stessa specie o di specie diverse.

Analisi delle comunità microbiche tramite metodi molecolari

Appunti fai

Fine della lezione precedente.

Lezione 23/11 power Point 7: metodi molecolari

Sequenziamento del gene 16S rRNA

Raggruppamento in OTUs

Le sequenze vengono raggruppate in unità tassonomiche operative (OTUs), ovvero in cluster di sequenze simili.

Il raggruppamento in OTU può essere fatto:

- **De novo** (senza un database di riferimento)
- **Closed Reference** (con un database di riferimento)
- **Open Reference** (le sequenze sono prima raggruppate in base ad un database di riferimento, quelle che non hanno match sono raggruppate de novo)

Per il **raggruppamento de novo** delle sequenze sono disponibili diversi algoritmi:

- *UPARSE-OTU*
- *DADA2*

1. L'algoritmo **UPARSE-OTU** individua le sequenze rappresentative di ciascuna OTU all'interno del dataset. Come input deve essere usato un file contenente le sequenze filtrate, de-replicate e con l'indicazione dell'abbondanza. Siccome le sequenze più abbondanti hanno una probabilità minore di essere affette da errore, l'algoritmo considera le sequenze in ordine di abbondanza.

L'UPARSE-OTU considera le sequenze in ordine di abbondanza e individua le sequenze rappresentative delle OTUs in modo che:

- Tutte le sequenze rappresentative delle OTU abbiano una similarità tra loro <97%
- La sequenza rappresentativa di ciascuna OTU sia la più abbondante nel suo intorno
- Tutte le sequenze in input siano assegnate ad una OTU con similarità $\geq 97\%$

2. Con l'algoritmo **DADA2** non si parla di OTUs ma di Amplicon Sequence Variants (ASVs).
Premessa: durante gli step di PCR e sequenziamento possono essere introdotti degli errori.

Il DADA2 sfrutta le informazioni contenute nei punteggi di qualità delle sequenze fastq per elaborare un modello degli errori introdotti durante le fasi di PCR e sequenziamento.

Il modello è utilizzato per ricostruire le sequenze nel campione di partenza. Si assume che la sequenza più abbondante sia corretta e che le altre siano affette da errore.

Quindi:

- Si calcola la frequenza di ciascuna sostituzione per ciascun quality score: $p(A \rightarrow T, 30)$.
- Si calcola il tasso di errore con cui la read i è prodotta dalla sequenza j .
- Si verifica se l'abbondanza della read i può essere spiegata dal modello.

Limitazioni del sequenziamento del gene 16S rRNA

Le informazioni che si ottengono consentono solamente di identificare i microrganismi presenti nella comunità microbica e le rispettive abbondanze relative.

Le informazioni sulle capacità dei microrganismi individuati possono solo essere ipotizzate in base alle informazioni reperibili in letteratura. Inoltre non è possibile capire se i microrganismi identificati erano attivi nel momento del campionamento.

Metagenomica e metatrascrittomica

Alcune delle limitazioni dello studio delle comunità microbiche tramite sequenziamento del gene 16S rRNA possono essere superate utilizzando approcci più complessi:

- **Metagenomica** → sequenziamento del DNA dell'intera comunità microbica. Fornisce informazioni sui geni presenti nelle comunità.
- **Metatrascrittomica** → sequenziamento dell'mRNA dell'intera comunità. Fornisce informazioni sui geni attivi al momento del campionamento.

CICLO DELLO ZOLFO

Si tratta di un ciclo complesso in quanto questo elemento presenta un ampio numero di stati di ossidazione e molte reazioni sono **abiotiche**. Dei diversi stati di ossidazione dello zolfo, 3 sono particolarmente significativi in natura:

- 1) **-2** (il gruppo solfidrile, R-SH e il gruppo solfuro, HS-);
- 2) **0** (zolfo elementale, S);
- 3) **+6** (SO₄²⁻, solfato).

La maggior parte dello zolfo si trova nei sedimenti e nelle rocce sotto forma di solfati (gesso - CaSO₄), e di solfuri (pirite, FeS₂). Il principale serbatoio di SO₄²⁻ nella biosfera è negli oceani.

In condizioni anaerobiche il solfato può essere usato come *accettore* di elettroni e ridotto a idrogeno solforato (H₂S - gassoso) che a pH maggiori di 7 può trovarsi in forme non volatili (HS⁻ o S²⁻). Perché avvenga solfato riduzione devono essere presenti, oltre al solfato, donatori di elettroni (sostanza organica, H₂), per esempio in aree costiere in cui sono presenti scarichi organici.

I solfuri possono legarsi al ferro formando minerali insolubili (FeS₂), oppure, in presenza di ossigeno, può ossidarsi abioticamente. L'ossidazione del solfuro a S₀ e poi a SO₄²⁻ può anche avvenire per azioni di microrganismi chemiolitotrofi (generalmente condizioni aerobiche), o di fototofi anossigenici (condizioni anaerobiche). Lo zolfo elementare può anche essere ridotto a solfuro in condizioni anaerobiche da alcuni Bacteria o Archaea (ipertermofili).

CICLO DEL FERRO

Il Fe è uno degli elementi più abbondanti della crosta terrestre. Possiamo trovarlo in due stati di ossidazione: **ferroso (Fe²⁺)** e **ferrico (Fe³⁺)**. Il Fe₀ è abbondante nel nucleo della Terra ed è prodotto dalla fusione di minerali ferrosi.

- La riduzione del Fe³⁺ può avvenire sia per via chimica sia tramite respirazione anaerobica.
- L'ossidazione del Fe²⁺ può avvenire sia per via chimica sia per azione di microrganismi chemiolitotrofi.

Il ferro può influenzare la disponibilità di nutrienti (es. P) e metalli tossici (es. As) formando complessi insolubili.

Reazioni redox nel ciclo del ferro foto slide 66

In natura, le principali forme di ferro sono Fe²⁺ e Fe³⁺.

Fe₀ è principalmente il prodotto derivante dalla fusione di minerali ferrosi.

Fe³⁺ si ritrova in vari minerali come l'idrossido di ferro (Fe(OH)₃).

CICLO DEL FOSFORO

Il fosforo ha un ruolo fondamentale nella sintesi degli acidi nucleici e dei fosfolipidi e nelle trasformazioni energetiche. In natura si trova in forma di fosfato e **non cambia lo stato di ossidazione durante i cicli biogeochimici** (le trasformazioni sono solo da organico a inorganico e da solubile a insolubile, o viceversa).

1. Le piante assimilano il fosfato inorganico che entra nella catena trofica.
2. Il fosforo è poi rilasciato dalla degradazione microbica della sostanza organica.
3. Il fosfato inorganico presente nei minerali può essere reso disponibile dall'azione di diversi microrganismi (es. ferro-riduttori).

MICROBIOLOGIA APPLICATA

Spesso la microbiologia fa da ponte tra le discipline scientifiche e le aree di applicazione di queste. La microbiologia applicata si occupa di problemi pratici nei campi della medicina, farmacologia, agricoltura, ambito alimentare e dell'industria.

In campo industriale soprattutto l'utilizzo di microrganismi è legato al concetto di **sostenibilità**: con sostenibilità si intende una condizione di sviluppo in grado di assicurare il soddisfacimento dei bisogni della generazione presente senza compromettere la possibilità delle generazioni future di realizzare le proprie. Si parla spesso di **sostenibilità ambientale** ma esiste anche la **sostenibilità economica**, che si basa sullo stesso concetto.

- **Economia lineare**: si parte da delle materie prime e si lavorano fino ad ottenere il prodotto finale e gli scarti. Questo modello non è sostenibile poiché le materie prime iniziano a scarseggiare e gli scarti si accumulano.
- **Economia circolare**: gli scarti possono essere riutilizzati. Si cerca di limitare il numero di scarti che restano scarti, utilizzando gli altri come materie prime. I processi di produzione utilizzano quindi scarti, riciclano risorse.

La bioeconomia è un sistema che si basa su processi o materie prime di origine biologica. È circolare per natura perché la materia biologica si trova all'interno di cicli. Una volta che una pianta produce biomassa e questa viene utilizzata ad un certo punto rientrerà in ciclo di nuovo tramite la fotosintesi. Usando un prodotto biologico si inserisce il concetto di circolarità in un modello produttivo. Le applicazioni possibili sono tantissime, ma in tutte si può partire da biomasse di scarto di altri processi [?] alimentari, di depurazione, frazione organica di rifiuti [?] e utilizzarli come risorse.

Ciò che per noi è uno scarto per i microrganismi è una risorsa.

Le cinque grandi famiglie di prodotti sul mercato generati da microrganismi sono:

- Bioplastiche
- Antibiotici
- Prodotti alimentari
- Enzimi, surfattanti [?]detersivi ad esempio o nell'industria alimentare per predigestione carne [?]
- Biocombustibili e bioenergie

La **produzione biologica** di composti, presenta diversi vantaggi rispetto alla produzione *non* biologica. Questi vantaggi sono:

- Non vengono usati metalli pesanti come catalizzatori, che potrebbe essere inquinanti. Infatti non vengono usati catalizzatori.
- Le reazioni sono specifiche
- Si può ottenere una grande varietà di prodotti
- Si possono utilizzare diversi substrati

Questi microrganismi usati sono eterotrofi e sono batteri o lieviti. Ma come vengono scelti?

Si utilizzano **procedure di screening**, ovvero procedure per la valutazione di microrganismi con caratteristiche di interesse industriale (produzione di nuove molecole).

Ci sono due tipi di screening:

Primario—> isolamento e caratterizzazione dei microrganismi produttori

Secondario—> selezione e miglioramento dei ceppi produttori selezionati.

Screening primario

Isolamento

Se non sono disponibili ceppi da collezione è possibile isolarli da diversi ambienti in funzione delle caratteristiche desiderate.

Saggi di attività

Possono essere fatti in terreno solido (info qualitative o semi-quantitative) o in terreno liquido (info quantitative). I test in terreno solido prevedono per esempio la ricerca di aloni intorno alle colonie causati dalla diffusione della molecola di interesse. Con un test a terreno liquido per esempio è possibile valutare l'inibizione.. finisci da slide

Screening secondario

Si agisce sulle condizioni colturali e sul microorganismo per migliorare la produzione. Si possono sfruttare microrganismi iperproduttori, ma se necessario in alcuni casi è possibile selezionare mutanti o tecniche di ingenerai genetica.

Selezione di ceppi mutanti

Possono essere usati mutanti fisici (raggi X o raggi UV) o mutanti chimici che interferiscono a livello della replicazione del DNA o con meccanismi diversi, esempio acido nitroso. I mutanti devono essere poi selezionati per verificare la presenza dei tratti