

# Osservazioni comparative sull'andamento della flora microbica delle acque minerali naturali confezionate in vetro, « PVC » e « tetrabrik »

G. DE FELIP, L. TOTI e P. IANNICELLI

*Laboratori di Microbiologia, Istituto Superiore di Sanità, Roma*

Come è noto, l'andamento nel tempo della carica microbica saprofitaria nelle acque minerali non gassate presenta un'evoluzione correlata a diversi fattori: composizione dell'acqua stessa, natura della flora microbica in essa presente all'origine e non ultimo, caratteristiche del contenitore.

Numerosi AA. [1-3], infatti, hanno evidenziato nelle acque minerali non gassate, confezionate in bottiglie di cloruro di polivinile, un più vivace andamento della flora microbica che, in linea di massima, raggiunge livelli più elevati e in tempo minore, di quelli riscontrabili nella medesima acqua confezionata in bottiglie di vetro.

In questi ultimi tempi, sono state poste in commercio acque minerali non gassate confezionate in contenitori tipo « tetrabrik » formati, come è noto, da cartone, rivestito internamente da un laminato di polietilene; il loro riempimento avviene fondamentalmente, secondo le medesime modalità seguite per il confezionamento del latte, ampiamente noto a tutti a che non staremo quindi a descrivere.

Poiché, da un esame sulla letteratura in argomento, le indagini microbiologiche su acqua confezionata in tali contenitori ci sono sembrate molto scarse, abbiamo pensato che fosse utile seguire nel tempo l'andamento della flora microbica saprofitaria nell'acqua minerale non gassata confezionata nei contenitori tipo « tetrabrik » studiando in parallelo la carica microbica della medesima acqua confezionata in contenitori di vetro e di cloruro di polivinile.

A tal fine sono stati presi in esame due tipi di acqua delle quali una medio-minerale ed una oligominerale. Tali acque, subito dopo la captazione, venivano distribuite in bottiglie di vetro, in bottiglie di PVC, e in contenitori tipo « tetrabrik ».

Parte dei contenitori veniva mantenuta a 37 °C e parte a 20 °C per simulare, nel corso dell'esperienza, temperature di stoccaggio tra quelle più frequentemente riscontrabili nei nostri climi.

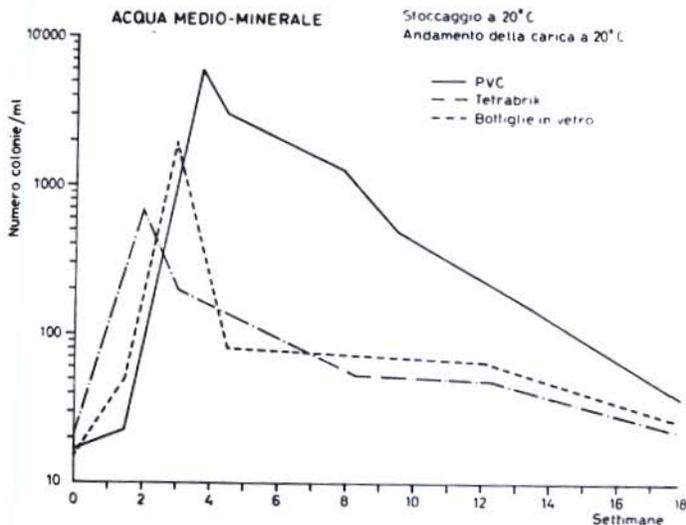


Fig. 1. - Andamento della carica microbica di acque minerali nei tre tipi di contenitori esaminati.

I vari campioni di acqua (5 per ogni tipo di contenitore) venivano esaminati a intervalli di una settimana determinando rispettivamente la carica batterica sia a 37° C che a 20° C.

I risultati di tali determinazioni vengono riportati nei grafici delle Fig. 1—5.

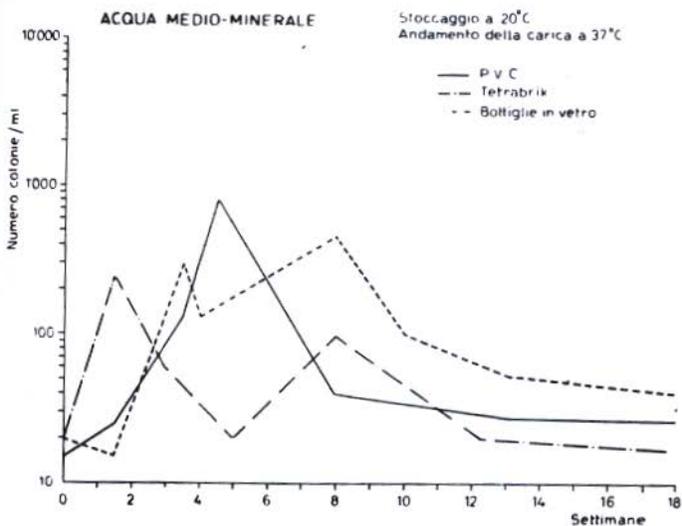


Fig. 2. - Andamento della carica microbica di acque minerali nei tre tipi di contenitori esaminati.

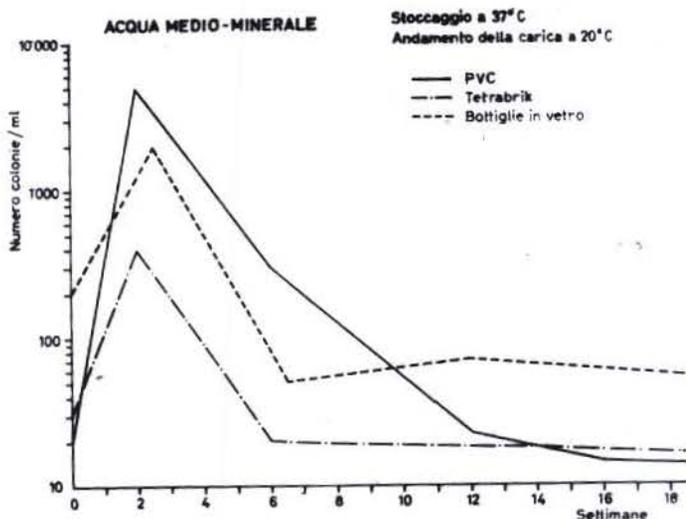


Fig. 3. - Andamento della carica microbica di acque minerali nei tre tipi di contenitori esaminati.

Da tali grafici si può rilevare, come del resto già risulta da esperienze analoghe condotte da altri AA. [4, 5], che la carica microbica di tutti i campioni di acqua confezionati in PVC mantenuti sia a 37 °C che a 20 °C, presenta valori significativamente più elevati di quelli riscontrabili nella medesima acqua confezionata in bottiglie di vetro e che comunque nel tempo tali valori tendono a confluire.

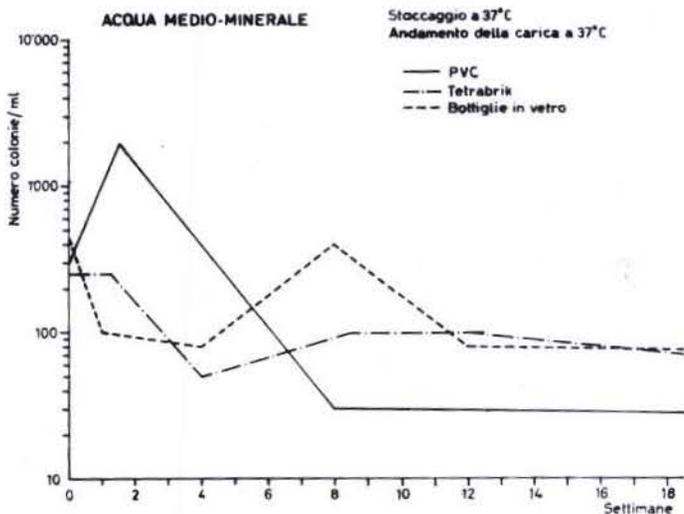


Fig. 4. - Andamento della carica microbica di acque minerali nei tre tipi di contenitori esaminati.

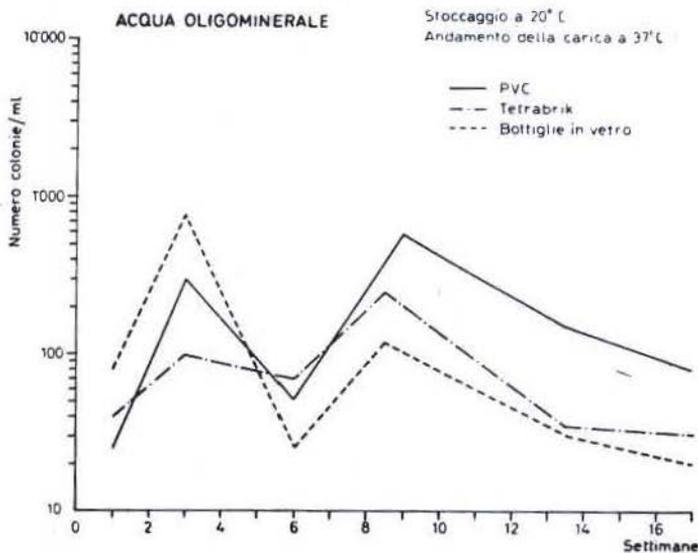


Fig. 5. - Andamento della carica microbica di acque minerali nei tre tipi di contenitori esaminati.

Nel corso di tali indagini, abbiamo potuto rilevare, in particolare, che esiste una sensibile differenza tra la carica microbica dei campioni di acqua confezionati in contenitori tipo « tetrabrik » e negli altri contenitori; tali differenze sono state rilevate sia nei campioni mantenuti a 37 °C che nei campioni mantenuti a 20 °C e si riferiscono alla carica determinata sia a 37 °C che a 20 °C; tali differenze vanno dall'80 % al 300 % sia nell'acqua oligominerale che nell'acqua medio-minerale.

A questo proposito ricorderemo che diversi AA. [3, 4] hanno condotto indagini intese a spiegare l'origine delle differenze delle cariche microbiche in relazione alla natura del contenitore; secondo alcuni, in particolare, la differente cinetica della carica microbica saprofitaria sarebbe da correlare alle caratteristiche di rugosità della superficie interna dei contenitori stessi; tali rugosità costituirebbero delle « nicchie », che per vari motivi favorirebbero lo sviluppo di cloni batterici e quindi costituirebbero una spinta verso l'aumento della carica microbica stessa.

Nel quadro di questa ipotesi abbiamo eseguito delle fotografie della superficie interna dei vari tipi di contenitori (Fig. 6-8).

Per meglio studiare la struttura e la conformazione delle eventuali rugosità presenti nei contenitori stessi, le fotografie sono state eseguite a 400 diametri impiegando una particolare tecnica analoga a quella impiegata nella microscopia elettronica. Le superfici interne, infatti, prima di venire

fotografate, venivano sottoposte ad un processo di « ombreggiatura » mediante proiezione sulle medesime di microparticelle di cromo, al fine di meglio osservare le caratteristiche delle eventuali rugosità presenti in dette superfici.

Le fotografie ottenute mettono in evidenza rilevanti differenze nella struttura microscopica della parete interna dei tre contenitori; la superficie



Fig. 6. - Superficie interna di un contenitore in vetro.

delle bottiglie in vetro mostra delle formazioni sferiche di dimensioni variabili, piuttosto rade, che sembrerebbero costituire delle nicchie nella struttura del vetro che risulta, nel complesso, abbastanza omogenea. La superficie interna dei contenitori in PVC appare invece incisa da profondi solchi ad andamento parallelo, riuniti in piccoli gruppi isolati. La parete interna del

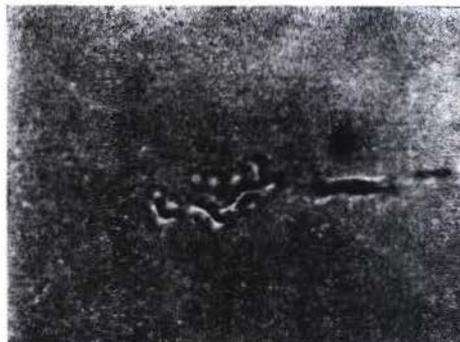


Fig. 7. - Superficie interna di un contenitore in PVC.

« tetrabrik », mostra invece solchi, più o meno profondi, senza un andamento preciso, che ricoprono interamente tale superficie.

Da quanto si può rilevare da queste indagini, sia pure preliminari, non sembra che sussista una chiara correlazione tra aspetto fisico della superficie interna dei contenitori e andamento della carica microbica; si può rilevare soltanto che la carica microbica risulta piuttosto ridotta proprio

nei contenitori la cui superficie è più ricca di rugosità; ciò sembrerebbe in contrasto da quanto rilevato da altri AA. [6-8].

Nel corso di tali esperienze, inoltre, sono stati rilevati dei « picchi » nell'andamento della carica microbica (Fig. 1-5). Tali picchi potrebbero essere in relazione a modificazioni del substrato (acqua minerale), in seguito a feno-

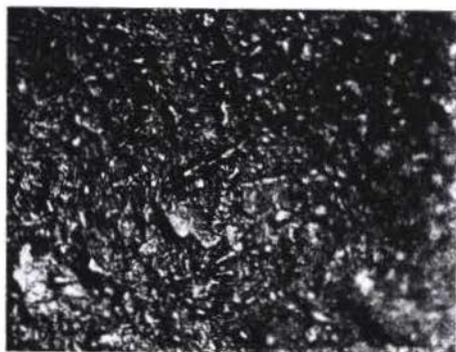


Fig. 8. - Superficie interna di un contenitore in « tetrabrik ».

meni di lisi della flora microbica o a modificazioni delle eventuali condizioni di antagonismo microbico eventualmente riscontrabili nell'acqua dopo l'imbottigliamento.

Prima di concludere, ci sembra opportuno accennare ad alcune esperienze condotte in collaborazione con i Laboratori di Fisica dell'Istituto, nell'intento di trovare una correlazione tra l'andamento della carica microbica nelle acque e possibili differenze di potenziale che, secondo taluni ricercatori, si realizzerebbero tra la massa dell'acqua minerale e la superficie del contenitore.

Tali differenze di potenziale avrebbero, ripeto sempre secondo l'opinione di alcuni ricercatori, la capacità di favorire l'assimilazione, da parte della flora microbica autotrofa od oligotrofa, dei nutriliti, certamente scarsi, presenti in tutte le acque minerali.

Nell'intento di verificare tale ipotesi, sono state condotte misurazioni per evidenziare differenze di potenziale eventualmente esistenti fra liquido e superficie interna dei contenitori. Tali misurazioni non hanno dato luogo a risultati significativi; infatti le misure effettuate con un voltmetro differenziale ad alta precisione (« DC voltage standard differential Voltmeter » mod. 335 A della Fluke) hanno sempre fornito risultati confrontabili con il « rumore di fondo » riferibile a misurazioni di pochi microvolts.

**Summary** (*Comparative investigations on microbic charge of some mineral waters bottled in glass, polyvinylchloride and laminated polyethylene*). — The Authors report the results of comparative investigations carried out

on some mineral waters bottled in various containers (laminated polyethylene, glass, PVC).

The microbial charges vary in relation to the kind of container and resulted to be lower in the case of containers made of polyethylene.

**Résumé** (*Recherches comparatives sur la charge microbique de certaines aux minérales dans conteniteurs en verre, PVC et laminés de polyéthylènes*). — Les Auteurs rapportent les résultats de recherches comparatives conduites sur certaines aux minérales dans des différents conteniteurs (laminés de polyéthylènes, verre, PVC).

Les charges microbiques varient en relation à la nature des conteniteurs, résultant plus basses dans le cas de conteniteurs en polyéthylène.

#### BIBLIOGRAFIA

1. BUTTIAUX, R. 1959. Le contrôle bactériologique des eaux minérales. *Rev. Hyg. Med. Soc.* **7**: 131.
2. BUTTIAUX, R. 1960. La surveillance bactériologique des eaux minérales en bouteilles et en boîtes. *Ann. Inst. Pasteur, Lille.* **2**: 23-28.
3. DEL VECCHIO, V. & M. FISCHETTI. 1972. Andamento nel tempo della flora saprofità presente in acque minerali: confronto fra contenitori di vetro e contenitori di plastica. *Nuovi Ann. Ig. Microbiol.* **23**: 277-285.
4. MASSON, A. & D. CHAUVIN. 1973. Etude de quelques phénomènes pouvant influencer la charge microbienne des eaux minérales en bouteilles plastiques et verre. Laboratoire Cantonal de Lausanne.
5. PASQUINI, R., A. SAVINO, G. SCARSELLATI SFORZOLINI. 1974. Indagini sulle cause del differente contenuto microbico di acque minerali imbottigliate in contenitori di vetro e di plastica. *Ann. Sclavo.* **16**: 434-437.
6. FISCHETTI, M. 1968. Comportamento nel tempo della flora microbica saprofità presente in acque minerali imbottigliate. Nota I: ricerca condotta nel 1966-67 su un'acqua medio-minerale. *Nuovi Ann. Ig. Microbiol.* **19**: 757-759.
7. FISCHETTI, M. 1968. Comportamento nel tempo, della flora microbica saprofità presente in acque minerali imbottigliate. Nota II: ricerca condotta nel 1967 su un'acqua oligo-minerale. *Nuovi Ann. Ig. Microbiol.* **19**: 773-775.
8. FISCHETTI, M. 1968. Comportamento nel tempo, della flora microbica saprofità presente in acque minerali imbottigliate. Nota III: ricerca condotta nel 1967-68 su un'acqua minerale. *Nuovi. Ann. Ig. Microbiol.* **19**: 782-784.