

LA QUALITÀ DEL LATTE BOVINO PER I FORMAGGI



A cura di **CLAUDIA MOLINARI**

Contaminazione da spore: un problema impellente

Carica microbica e qualità del latte: un matrimonio ritenuto ormai impossibile, rispetto al quale le convinzioni sono molto cambiate negli ultimi tempi. Infatti, se fino a qualche anno fa, almeno per alcune produzioni casearie, una certa carica microbica del latte era tollerata, anzi veniva in un certo senso ritenuta quasi necessaria per favorire il processo di maturazione e qualificare le diverse produzioni, oggi giorno i problemi igienico-sanitari e, soprattutto, la necessità di standardizzare meglio le qualità dei prodotti (la componente microbica si caratterizza infatti per forti oscillazioni) hanno spinto il mondo produttivo ad indirizzarsi verso una riduzione della microflora.

Inoltre la moderna tecnica di allevamento prevede l'ampia diffusione delle stalle aperte e della mungitura meccanica: fattori, questi ultimi, che richiederebbero maggiore preparazione e responsabilità da parte degli addetti alle stalle. Infatti, com'è noto, con la mungitura meccanica, in mancanza di idonei processi di pulizia e disinfezione degli impianti, si instaurano nelle condutture e sulle

diverse superfici di passaggio o di raccolta del latte microorganismi aerobi che si riproducono rapidamente a spese dei residui del latte, compromettendone l'utilizzazione.

Un altro aspetto molto importante è legato all'alimentazione dei capi: l'introduzione diffusa degli insilati ha portato alla presenza costante di microorganismi anticaseari, in particolare butirrici o clostridi anaerobi, la cui presenza nel latte, anche se contenuta, può costituire un serio problema per le più classiche produzioni casearie a lunga stagionatura (Grana e Provolone).

Nel corso della mungitura il latte, che all'interno della mammella sana è praticamente sterile, viene inquinato da numerosi gruppi microbici: l'entità della contaminazione dipende da numerosi fattori, di cui alcuni sono strettamente legati all'animale e alle sue condizioni di salute, mentre altri fattori riguardano il livello di igiene raggiunto nelle operazioni di mungitura (lavaggio della mammella, della mungitrice e delle condutture) e nella gestione delle attrezzature di raccolta del latte.



Foto Marchetti

I DIFETTI NEI FORMAGGI CAUSATI DAI CLOSTRIDI

La quantità di spore del genere *Clostridium* nel latte è fortemente aumentata negli anni più recenti. L'aumento dei clostridi non è soltanto un problema italiano, ma comune anche ad altri Paesi europei, com'è ampiamente testimoniato anche in letteratura. La preoccupazione che questo problema suscita nel settore zootecnico, ma soprattutto lattiero-caseario, deriva dal fatto che la presenza nel latte di questi batteri rappresenta un costo di notevole rilievo per l'intero comparto lattiero-caseario. È noto infatti che i clostridi sono responsabili di gravi difetti a carico dei formaggi a lunga stagionatura, difetti che si manifestano soprattutto sotto forma di gonfiore tardivi, ai quali è correlato un notevole deprezzamento del formaggio e, dunque, una forte riduzione del valore aggiunto delle operazioni di trasformazione del latte. Ma non è tutto, poiché ci sono anche altri danni connessi direttamente od indirettamente alla presenza di questi batteri.

In letteratura si trovano tentativi di quantificazione di questi danni: nel caso del nostro Paese si può stimare che circa un milione di tonnellate di latte destinate alla produzione di Grana Padano devono essere trattate con prodotti anticlostridici, cui vanno aggiunte altre 250.000 tonnellate per la produzione di formaggio Provolone. Inoltre i controlli quindicinali effettuati allo scopo di monitorare i livelli di contaminazione butirrica sul latte conferito da ciascun produttore, quindi su circa 6-8.000 allevamenti, si traducono in almeno 200.000 analisi all'anno. Infine, va considerata anche la penalizzazione di prezzo, che è applicata per livelli di contaminazione superiori a 1.000 spore/litro di latte e che incide per circa l'1,5% del compenso pagato agli allevatori.

L'utilizzo di additivi costituisce senza dubbio una penalizzazione per l'immagine commerciale del formaggio: il che diventa ancora più grave quando si parla di mercati esteri. Nonostante gli additivi utilizzati siano considerati innocui per la salute umana (come nel caso del lisozima utilizzato nella produzione del Grana Padano) il risultato è comunque negativo, poiché porta il consumatore a pensare che il formaggio in questione sia meno naturale.

GLI INSILATI PIÙ A RISCHIO

I clostridi sono batteri anaerobi che, sotto forma di spora, si ritrovano in numero piuttosto elevato nel terreno. A questo genere di batteri appartengono i principali agenti responsabili dei più diffusi



Foto Righi

di difetti dei formaggi: *Cl. tyrobutyricum*, *Cl. butyricum*, *Cl. sporogenes* e *Cl. bif fermentans*. I danni che questi batteri possono provocare, nelle loro forme più gravi, come quelle prodotte da *Cl. sporogenes*, compromettono addirittura la commestibilità del prodotto.

Il numero di spore presenti nel terreno è molto variabile (può oscillare da 500 a quasi 100.000 unità per grammo di terreno secco) e dipende da molti fattori, che vanno dalla tessitura (i terreni forti, argillosi o limosi ne contengono di più rispetto a quelli più ricchi di scheletro) alle letamazioni che, forse, ne aumentano la concentrazione. Nel corso della raccolta il foraggio viene contaminato in misu-

ra più o meno elevata dalle spore butirriche presenti nel terreno. Anche lo spandimento di liquami sui prati può aumentare il grado di contaminazione butirrica del foraggio.

I foraggi che presentano i rischi di contaminazione più elevati sono gli insilati di pannocchie di mais, gli insilati integrali di mais e, più ancora, gli insilati di erba. Tuttavia ciò che determina maggiormente il danno provocato dalla contaminazione è la qualità della conservazione dell'insilato. I fattori che vanno assolutamente tenuti sotto controllo per migliorare l'insilato sono il pH, la concentrazione in acidi grassi volatili e l'azoto ammoniacale.

I risultati delle ricerche citate in letteratura indicano che per il mais trinciato integrale, preparato secondo i canoni ormai noti, non esiste alcun problema di sviluppo di clostridi, in quanto la modesta attività respiratoria e la prevalente attività fermentativa omolattica porta al rapidissimo abbassamento di pH (3,6-3,7), premessa indispensabile per impedire lo sviluppo dei clostridi. Fondamentalmente il fattore limitante sembra rappresentato dalla presenza di aria, che rischia invece di provocare un'acidificazione più lenta e spesso inadeguata, con pH superiore a 4. Ampia conferma in questo senso si è avuta sia attraverso i risultati ottenuti con i silo spe-

imentali non sottoposti ad estrazione dell'aria, sia osservando i valori, generalmente più elevati, di spore nelle zone periferiche dei silo a trincea.

L'USO DI ADDITIVI CHIMICI E BIOLOGICI

Da anni si va sviluppando il capitolo dell'utilizzo di additivi chimici biologici al momento dell'insilamento. Da numerose ricerche è emerso che la p-formaldeide ha dimostrato di avere una pressoché assoluta efficacia anticlostridica. Tra l'altro all'utilizzo di questo prodotto – per il quale è però necessaria l'assoluta anaerobiosi – sono correlati anche altri vantaggi: vengono infatti bloccati in larga misura tutti i processi fermentativi, così come viene ridotta la degradabilità delle proteine nel rumine.

Anche il nitrito di sodio è un attivo anticlostridico ed antifermentativo, così come il nitrato di potassio ha confermato la sua notoria azione anticlostridica. Molto interesse, in questi ultimi anni, ha suscitato l'utilizzo di lattobacilli, che indubbiamente influiscono in maniera positiva sul processo di conservazione per insilamento, in quanto accelerano l'acidificazione e riducono la respirazione. Certamente la scelta di utilizzare o meno additivi, rimane di ordine economico e deve essere valutata caso per caso con molta accuratezza. ■

Meno rischi nelle stalle con igiene e corretta gestione



Foto Arch. Anarb

La contaminazione di sporigeni anaerobi ha rappresentato da sempre un problema di primaria importanza per la produzione di formaggi tipici a lunga stagionatura. Per questo l'azienda sperimentale "Vittorio Tadini" di Podenzano (PC) ha svolto recentemente, insieme ad Arte Casearia di Modena, un vasto lavoro di monitoraggio del latte destinato a Parmigiano-Reggiano e Grana Padano che aveva, appunto, come obiettivo la verifica della contaminazione da sporigeni anaerobi. I risultati hanno evidenziato l'ampia diffusione della presenza di spore di clostridi butirrici nel latte di massa proveniente dagli allevamenti afferenti ai caseifici presenti nel bacino di produzione di questi due formaggi e sono state individuate le cause più diffuse ed i fattori predisponenti a livello aziendale, in grado di aumentare la contaminazione del latte.

Dalla raccolta delle informazioni riguardanti le caratteristiche delle aziende zootecniche (ubicazione, consistenza media degli allevamenti, tipo di stabulazione, strutture, gestione alimentare, modalità di mungitura e conservazione del latte) sono emerse notevoli differenze tra gli allevamenti presenti nel comprensorio dei due consorzi di tutela, quello del Parmigiano-Reggiano (le province interessate dall'indagine sono state Modena, Bologna e Mantova) e quello del Grana Padano per Piacenza.

Analizzando le correlazioni esistenti tra la contaminazione del latte e le caratteristiche delle aziende zootecniche, è emerso che le spore di clostridi butirrici sono più frequenti negli allevamenti di pianura rispetto a quelli di collina ed in quelli a stabulazione libera - sia con cuccette, che con lettiera permanente - rispetto a quelli a stabulazione fissa.

L'utilizzo del separato come lettiera ha determinato una contaminazione del latte molto elevata, mentre l'impiego della paglia, diffusa nella maggior parte delle aziende considerate, non ha fatto registrare valori molto alti. La ricerca ha poi confermato l'influenza dell'inadeguato stato di manutenzione della zona di riposo: nelle aziende che usavano la paglia come lettiera è molto importante la quantità impiegata e la frequenza con cui la stessa paglia è aggiunta.



Foto Marchetti

Inoltre è stata riscontrata un'alta percentuale di campioni positivi negli allevamenti caratterizzati da un'alta densità di animali allevati nei box e da scarsa aerazione dell'ambiente. Il ricambio dell'aria è importante anche per allontanare le spore, ma nell'indagine la presenza di ventilatori per la circolazione forzata dell'aria ha fatto registrare valori di positività lievemente superiori rispetto alle aziende non dotate di tali sistemi.



Foto Riccioni

L'IMPORTANZA DELL'ALIMENTAZIONE

Per quanto riguarda la gestione dell'alimentazione, la somministrazione degli alimenti sotto forma di *unifeed* umido ha fatto registrare una frequenza di campioni di latte positivi agli sporigeni sensibilmente superiore rispetto all'*unifeed* secco e, ancor più, rispetto alla somministrazione tradizionale; ciò perché spesso la polvere e la terra presenti nel fieno si mescolano alla miscelata e la presenza contemporanea nell'*unifeed* umido dell'acqua e degli zuccheri dei concentrati consente lo sviluppo delle spore dei clostridi. Ancora: le razioni spinte, cioè ad alto contenuto energetico e proteico, o al contrario carenti, hanno fatto registrare valori percentuali di positività superiori rispetto all'impiego di diete adeguate ai fabbisogni degli animali.

Sia la qualità dei foraggi che la provenienza degli stessi, cioè la percentuale acquistata sul mercato, non sembrano invece influenzare molto il parametro, mentre più importante è risultata la modalità di somministrazione della razione. Gli allevamenti che adottano la tecnica del piatto unico e, quindi, che distribuiscono la razione con il carro miscelatore, hanno fatto registrare un numero di campioni positivi superiore rispetto all'uso dello srotolatore o alla somministrazione manuale.

Più importante è risultato il materiale impiegato per le mangiatoie o nella corsia di alimentazione: valori molto elevati di spore si sono registrati in presenza di rivestimenti plastificati/vetrificati, anche se adottati da poche aziende, rispetto allo spolvero in cemento, che è anche il materiale più diffuso. Anche lo stato di conservazione della zona di alimentazione sembra influenzare la frequenza di campioni po-

sitivi: quando si presentava usurata, infatti, ha fatto registrare valori superiori.

Un altro fattore fondamentale è la pulizia delle mangiatoie e il loro stato di conservazione, poiché se queste si presentano deteriorate, l'allontanamento delle polveri e del terreno ricchi di spore risulta molto difficile. Infine, anche l'utilizzo di foraggio verde sembra influenzare la percentuale di campioni di latte positivi, presumibilmente perché ciò determina un maggiore imbrattamento a livello dell'ambiente di stalla e degli animali.

LA MUNGITURA: UN'OPERAZIONE DECISIVA

L'operazione decisiva nel determinare la carica di spore di clostridi butirrici nel latte è però la mungitura. Campioni di latte positivi si sono riscontrati più frequentemente negli allevamenti che mungevano in sala rispetto a quelli che mungevano alla posta, sia con lattodotto, che con il secchio. Per contro, la frequenza di analisi positive agli sporigeni è risultata meno elevata nelle aziende che stoccano il latte nei bidoni, piuttosto che in cisterna.

Il latte proveniente dagli allevamenti che non effettuano la pulizia dei capezzoli prima della mungitura o che invece utilizzano gli stracci è risultato più frequentemente contaminato da sporigeni, rispetto al latte prodotto dalle aziende che utilizzavano la carta; quest'ultimo è anche il metodo più diffuso in tutte le tipologie di impianti di mungitura. Anche il lavaggio della mammella, fatto di routine oppure occasionalmente, è risultato un fattore in grado di aumentare la contaminazione del latte con sporigeni.

L'eccessiva ingestione di spore da parte delle bovine comporta una loro concentrazione nelle feci, che rappresentano una delle principali fonti di contaminazione del latte da clostridi. Essa è correlata positivamente alla quantità di spore nelle feci ed il grado di imbrattamento delle mammelle, e dei capezzoli in particolare, è determinato dal sistema di allevamento, dallo stato di manutenzione della lettiera, dalla gestione dei locali dove sostano le bovine e dalla mungitura. Pertanto si comprende facilmente l'importanza delle operazioni di pulizia dei capezzoli per la rimozione delle feci prima della mungitura, operazioni fondamentali per evitare l'eccessivo inquinamento del latte di massa.

Il monitoraggio compiuto dall'azienda Tadini conferma i risultati ottenuti in precedenti indagini, che evidenziano lo stretto legame esistente tra caratteristiche igienico-sanitarie del latte, aspetti alimentari, gestionali e strutturali dell'allevamento e qualità dei formaggi. ■

Cosa succede ai batteri nell'apparato digerente

Molti studi hanno avuto come oggetto le spore e il loro comportamento all'interno del tubo digerente dell'animale. In particolare l'obiettivo dei lavori sperimentali presenti in letteratura è stato quello di comprendere in modo certo se esse si moltiplicano nel tubo digerente.

Per comprendere questi meccanismi già da parecchi anni è stato messo a punto un metodo d'indagine che consiste nell'introdurre nel rumine, mediante una fistola, spore o cellule vegetative di un ceppo conosciuto di *Cl. tyrobutyricum* e nel seguire il loro comportamento nell'apparato digerente dell'animale.

GLI STUDI EFFETTUATI

Questo studio permette da un lato di misurare l'aumento o la diminuzione del numero di spore di *Cl. tyrobutyricum* impostando il rapporto spore escrete/spore ingerite; dall'altro di localizzare i siti di eventuale proliferazione nel rumine e nel tratto successivo del tubo digerente, misurando la velocità di escrezione delle spore di *Cl. tyrobutyricum* comparativamente ad un tracciante batterico.

I risultati di questa prova, che è stata compiuta da diversi ricercatori, hanno evidenziato che la presenza quasi permanente di una microflora anaerobica negli insilati sviluppatasi da spore è un fatto ricorrente ed anche in assenza di acido butirrico si possono contare 10.000 spore/grammo di specie fermentanti il lattato.

Le significative variazioni che si sono registrate nella contaminazione di una stessa parte dell'insilato hanno imposto la sua sterilizzazione per eliminare ogni rischio di interferenza da parte delle spore "selvagge". Una prova preliminare di sterilizzazione mediante l'ossido di etilene ha evidenziato che questa sostanza è efficace alla dose minima dell'1%: purtroppo, però, questo trattamento ha reso l'insilato inappetibile. Si è quindi dovuto ricorrere all'autoclave, in grado di abbattere la concentrazione di spore da 100 a 1.000 volte.

Sebbene senza alcun effetto sugli elementi volatili, questo trattamento tecnologico (130 gradi centigradi per 30 minuti) ha sicuramente modificato certi composti azotati e glucidici mediante precipitazione o idrolisi a seconda del pH dell'alimento (4,7-4,9). Talvolta l'insilato di mais, che per la



Foto Marchetti



Foto Marchetti

sua debole contaminazione naturale non è stato sterilizzato, non presenta differenza con gli insilati di erba medica nei riguardi del transito e della moltiplicazione delle spore di clostridi.

I BILANCI DELLE SPORE NEL TUBO DIGERENTE

Poiché non si conoscono tecniche, né substrati che permettono di contare selettivamente le cellule vegetative di clostridi nel tratto digerente, le variazioni del numero di spore vengono seguite con un metodo diretto (bilancio) ed uno indiretto (velocità di transito in riferimento ad un tracciante). I bilanci sono il risultato di fattori che possono influire sulle caratteristiche fisiologiche della spora nel corso della permanenza nel tubo digerente: perdita di vitalità, germinazione seguita o non da moltiplicazione delle cellule vegetative ed eventuale sporulazione.

Questo metodo mostra che per ciascuna specie, una parte delle spore è perduta. Nel caso dei bacilli, ne scompare una quantità che varia dal 25 al 50%, ma i risultati non sono omogenei e le perdite sono senza dubbio legate agli errori sperimentali e alla fissazione di spore sulle particelle vegetali alimentari. Questo è vero anche per *Cl. tyrobutyricum*, ma le differenze significative osservate nell'eliminazione dei clostridi confrontate ai bacilli implicano un processo supplementare di intervento selettivo contro le spore dei primi.

Un secondo metodo consente di differenziare i fenomeni a livello del rumine, poi nell'insieme del tubo digerente. L'impiego di spore di bacilli come tracciante permette di fare riferimento a particelle aventi una taglia uguale, una morfologia affine e delle

densità comparabili alle spore di clostridi. Dunque, tutti i risultati ottenuti "in vivo" concordano e portano a concludere che una parte delle spore di clostridi germina nel corso della permanenza nel tubo digerente. A questo proposito è interessante localizzare i siti favorevoli alla germinazione o allo sviluppo di questi sporigeni. Il rumine costituisce a questo riguardo una nicchia ecologica favorevole a causa di diversi fattori, tra cui la temperatura e la presenza di alcuni ioni come l'acetato e l'ammonio che favoriscono la germinazione; tuttavia vi sono sostanze inibitrici come il butirrato.

IL TURN OVER NEL RUMINE DURA 12-18 ORE

Il *turn-over* nel rumine è di 12-18 ore; alcune spore lo abbandonano molto presto dopo la loro introduzione; altre vi permangono più ore, mentre la maggior parte vi sosta una dozzina di ore. Ora è ragionevole pensare che le prime non hanno il tempo per germinarvi, mentre le altre hanno il tempo di moltiplicarsi.

La scomparsa più rapida di clostridi e di bacilli nel rumine sembra provare che le spore germinano, ma questo risultato non è sempre confermato *in vitro*. Talvolta la sola osservazione microscopica non vale se non quando la germinazione supera la fase iniziale e conduce a cellule vegetative facilmente distinguibili dalle spore (e non ne sono state osservate); oppure, al contrario, se le cellule introdotte sporulano ad un tasso minimo dell'1%.

Dopo il rumine le spore passano nell'abomaso in due-quattro ore. Considerato il pH di quest'organo (2,0-3,0), solo le spore intatte possono passare senza essere distrutte; talvolta in un mezzo acido le spore si liberano di una parte del loro calcio e la loro termoresistenza diminuisce, ma la loro vitalità persiste. Questo fenomeno basta del resto a spiegarne la distruzione parziale in un mezzo con HCl registrata dal test pepsina-tripsina.

A livello delle feci i risultati dei conteggi delle spore riflettono l'insieme dei fenomeni di distruzione, germinazione, moltiplicazione vegetativa e sporulazione che sono avvenuti nei diversi compartimenti del tubo digerente. Il rapporto utilizzato in questi studi "log.num.Clostridi/log.num.Bacilli", che diminuisce più in fretta nelle feci che nel rumine, prova che c'è ancora distruzione di spore e, di conseguenza, germinazione al di là del rumine. Nelle prime 8-16 ore del transito questa germinazione potrebbe inoltre portare fino alla nuova sporulazione, ma i ricercatori non sono completamente concordi a questo proposito. ■