

Foraggi insilati e rischi per la qualità igienica del latte destinato alla trasformazione casearia

Domenico Carminati
CREA-ZA

Centro di ricerca Zootecnia e Acquacoltura - Lodi



ASSOCIAZIONE VENETA ALLEVATORI

Convegno
«Foraggi di qualità dal campo al caseificio»
Venerdì 22 Febbraio 2019
HOTEL CROWNE PLAZA
Limena (PD)

Qualità igienica e sicurezza dei formaggi dipende

☐ qualità del latte

- ✓ stato di salute degli animali
- ✓ qualità degli alimenti (contaminanti chimici e microbiologici)
- ✓ igiene in allevamento e alla mungitura

- ✓ processi di trasformazione
 - trattamenti del latte
 - parametri di lavorazione
 - caratteristiche dei prodotti
 - igiene dell'ambiente
 - igiene del personale

dal latte ai formaggi

FORMAGGI A COAGULAZIONE ACIDA
Caprino, Quarg, Cottage



FORMAGGI A COAGULAZIONE ACIDO/TERMICA
Ricotta, Mascarpone

FORMAGGI A COAGULAZIONE PRESAMICA

a maturazione interna (batterica)

a maturazione fungina

a maturazione di crosta

di crosta
Brie
Camembert

Interna
Gorgonzola
Roquefort

Taleggio
Limburger

Extra duri

Grana Padano
Parmigiano Reggiano
Nostrano Valle Trompia
Pecorino Romano

Duri

Bagoss
Bitto
Silter
Casera
Asiago d'Allevo
Montasio
Monte Veronese d'Allevo
Piave
Fiore Sardo
Pecorino Siciliano
Pecorino Crotonese

Semi-Duri

Asiago Pressato
Fromadzo
Castelmagno
Branzi
Fontina
Raschera
Monte Veronese Pressato
Fossa
Pecorino Toscano
Stelvio

Molli

Caciotta
Toma
Italico
Crescenza
Robiola
Casolet
Casatella Trevigiana
Murazzano
Quartirolo
Murazzano

Pasta filata (molli)

Mozzarella di Bufala
Fiordilatte
Burrata
Vastedda

Pasta filata (semi-duri)

Provolone
Caciocavallo
Ragusano

Produzione
5-24 ore

Maturazione
2 settimane – 2 anni

Latte

Cagliata

Formaggio

Selezione

- preparazione
stoccaggio
standardizzazione
pastorizzazione

- Lavorazione
- acidificazione
 - coagulazione
 - sineresi
 - taglio*
 - cottura*
 - agitazione*
 - pressatura
 - salatura

- Sviluppo della microflora
- Metabolismo del lattosio
- Metabolismo del citrato
- Proteolisi
- Lipolisi
- Metabolismi secondari
- degradazione acidi grassi*
 - degradazione amminoacidi*
 - metabolismo del lattato*

Produzione di formaggio inizia con la **selezione** della materia prima:

- animale (razza, stato di salute, numero di lattazioni, ecc.)
- ambiente (stagione, provenienza geografica, ecc.)
- **alimentazione**
 - composizione chimica:
macrocostituenti (acqua, grasso, proteine, lattosio, minerali)
microcostituenti (vitamine, aminoacidi, acidi grassi, oligoelementi)

effetti su:

- resa e composizione del latte
- profilo acidi grassi
- colore e caratteristiche sensoriali del formaggio



- ✓ stato di salute degli animali
- ✓ **qualità degli alimenti**
- ✓ igiene in allevamento e alla mungitura

- **qualità igienica del latte**

- Foraggi/Insilati di buona qualità
 - migliorano l'efficienza di alimentazione
 - apporto di energia (sostanza organica digeribile)
 - aumento produzione di latte (> contenuto di proteine)
- Foraggi/insilati di cattiva qualità
 - riduzione materia organica digeribile
 - perdita in acidi grassi volatili
 - minore energia → < proteine nel latte, < produzione

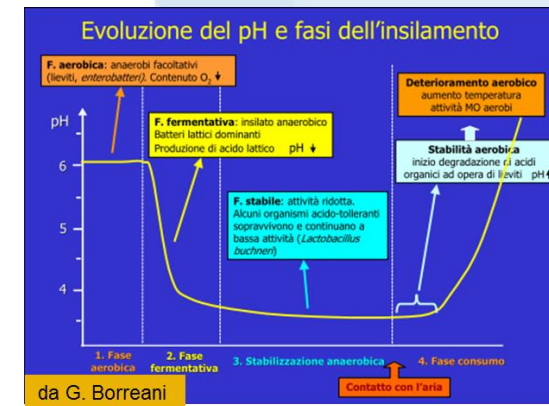
- Insilati di buona qualità
(rapido raggiungimento di condizioni anaerobiche, sviluppo flora lattica)
 - competizione microbica
 - produzione acido lattico ed acetico
 - riduzione pH
 - riduzione rischio fermentazioni anomale → > stabilità
 - minori ripercussioni sulla qualità igienica del latte

- Insilati di scarsa qualità (deteriorati)
 - ✓ alterazioni profilo microbiologico
 - ✓ ripercussioni su qualità igienica del latte



risks

- micotossine (conseguenti a sviluppo di muffe)
- batteri sporigeni (*Clostridium* ma anche *Bacillus*)
- deterioranti (coliformi, *E. coli*, lieviti)
- batteri patogeni (es. *Listeria monocytogenes*, *E. coli* enteropatogeni)



Aspergillus *Penicillium* *Fusarium*



Contaminazioni fungine

Micotossine

- diverse muffe possono produrre micotossine (principalmente *Penicillium*, *Aspergillus*, *Fusarium*, *Monascus*, *Trichoderma*, *Byssochlamys*)
- presenza di muffe non sufficiente per indicare presenza di tossine
→ senza sviluppo fungino non si ha produzione di tossine
- le muffe resistono sotto forma di spore: esposizione all'aria, presenza sostanze nutritive, umidità adeguata ($A_w > 0,6$) → condizioni favorevoli per la crescita e la sintesi di micotossine
- possono causare patologie soprattutto croniche (micotossicosi) e fenomeni acuti (disturbi ormonali, gastrointestinali, renali, cancro)



Micotossine

- se presenti nel foraggio prima della raccolta non vengono modificate durante lo stoccaggio
- fieni ammuffiti e mal conservati a rischio di micotossine
- in caso di deterioramento aerobico, sviluppo muffe tossinogene, possibile formazione micotossine nell'insilato
- corretta fermentazione insilato
 - inibito sviluppo fungino
 - possibile riduzione di alcune micotossine (sequestro o degradazione)



- micotossine dannose per la salute animale
- fermentazione ruminale può convertire alcune micotossine in metaboliti meno pericolosi
- escrezione di micotossine nel latte (carry-over) è bassa → influenzata dal peso molecolare, dalla lipofilia, dallo stato di salute dell'animale
- caso particolare: aflatossina B1 ingerita con l'alimento viene idrossilata a M1 nel fegato e secreta nel latte (limite consentito 0.05 µg/kg)

AFM₁ stabile nel latte e nei prodotti lattiero-caseari:

- si lega preferenzialmente alla caseina
- aumenta nel formaggio (da 2 a 6 volte rispetto a quella presente nel latte)
- in parte rimane nel siero (se usato per ricotta, 90% rimane nella scotta)
- stabile ai trattamenti termici
- riduzione nel tempo in prodotti con pH ≤ 4.0 e ricca flora lattica

Contaminazioni batteriche

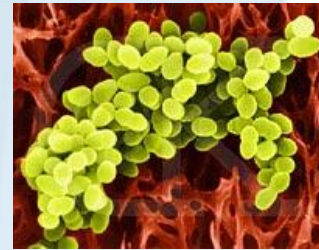
dal foraggio/insilato alcuni batteri possono arrivare a contaminare il latte e causare scadimento di qualità igienica dei formaggi

Contaminazioni dirette → rare (mungitura in sistemi aperti)
terreno raccolto col foraggio /aria / latte

Contaminazioni indirette → frequenti

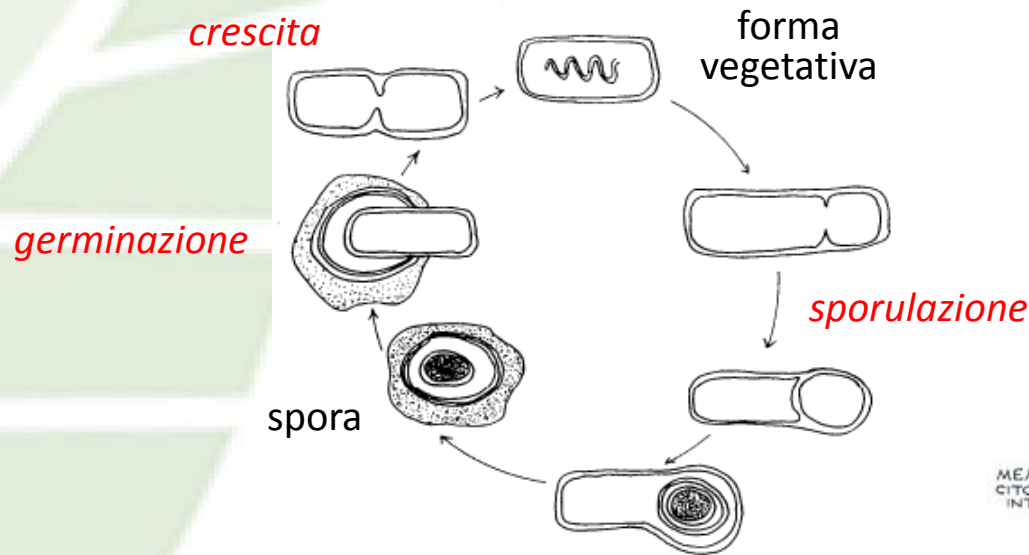
dal foraggio all'ambiente (polverosità, lettiera) → contaminazione della cute della mammella, insufficiente igiene in mungitura

sopravvivenza nell'animale, escrezione nelle feci → contaminazione della cute della mammella, insufficiente igiene in mungitura



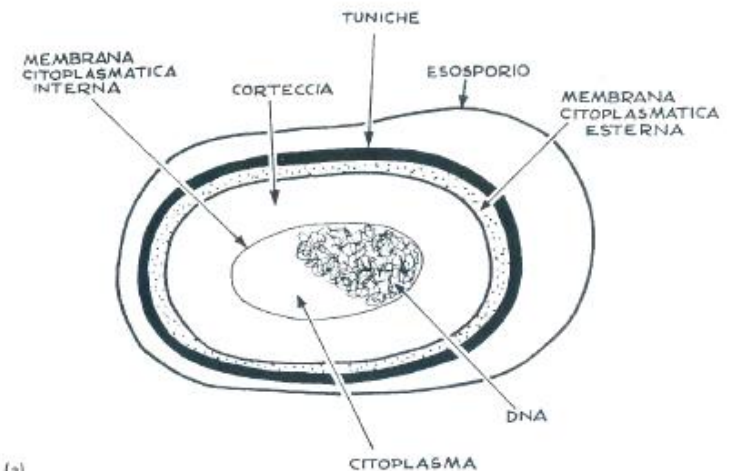
Batteri Sporigeni:

- anaerobi (*Clostridium*)
- aerobi (*Bacillus*)



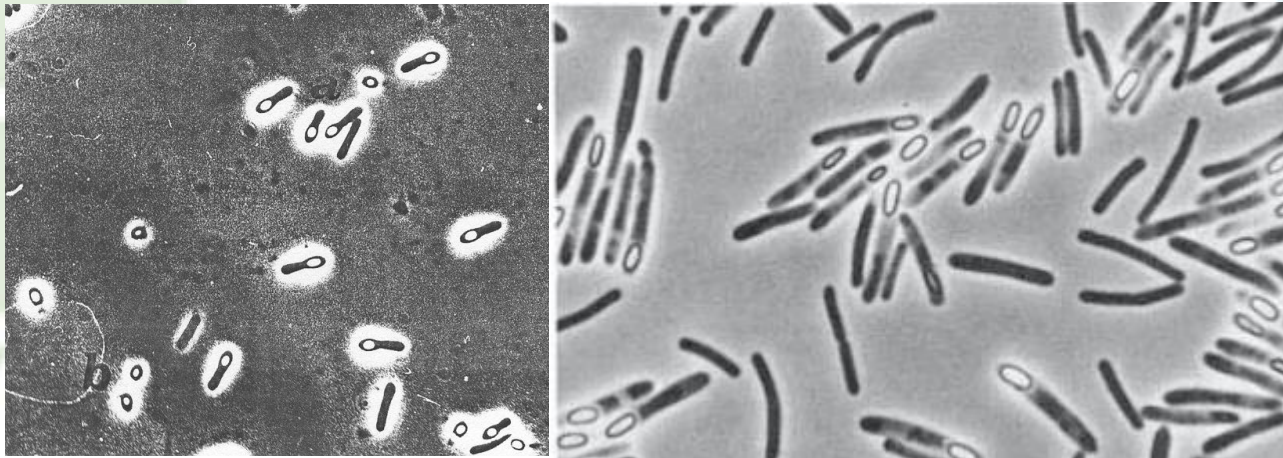
Ciclo vitale degli sporigeni

Rivestimenti sporali (corteccia, tunica, esosporio)
→ resistenza calore, radiazioni, essiccamento, battericidi



Clostridium

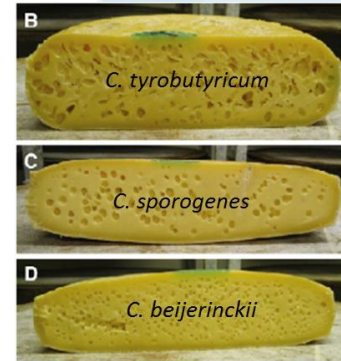
- bacilli anaerobi, Gram +, formano spore al termine del ciclo di crescita per resistere a condizioni ambientali avverse
- Ubiquitari → suolo, acqua, alimenti → presenti nel tratto gastrointestinale degli animali e dell'uomo
- alcune specie patogene (tossinogene) → botulismo, tetano
- altre specie alterative (proteolitiche, lipolitiche, gasogene) → difetti nei formaggi



Clostridi di maggiore interesse per i prodotti lattiero caseari

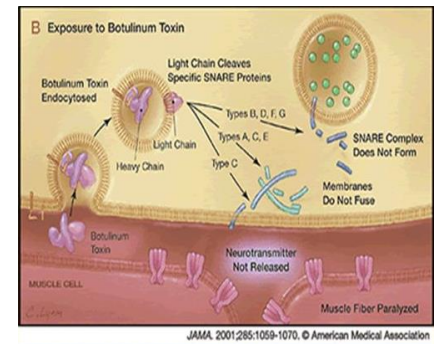
C. tyrobutyricum
C. butyricum
C. sporogenes
C. beijerinckii

alterativi



C. botulinum
C. perfringens

patogeni



	Clostridi butirrici			
	saccarolitici			proteolitici
	<i>C. tyrobutyricum</i>	<i>C. butyricum</i>	<i>C. beijerinckii</i>	<i>C. sporogenes</i>
range temperatura	30 – 37°C (ott.)		7 – 44 °C (lim.)	
pH minimo per crescere	> 4,4	> 4,8	> 4,8	>5,2
fermentazione lattosio	NO	SI	SI	NO
fermentazione lattato	SI	SI	NO	NO
proteolisi/lipolisi	NO	NO	NO	SI
degradazione aminoacidi	NO	NO	NO	SI
n° spore nel latte	< 30 - > 10.000 / litro			

fermentano carboidrati, acidi organici e/o degradano proteine e amminoacidi
 → producono acidi grassi volatili, CO₂, H₂, NH₃ e ammine biogene

Clostridi tossinogeni (*C. botulinum*) + sensibili al pH, possono crescere in insilati (mais, erba, orzo) deteriorati (pH > 5,3) producendo neurotossine

Ciclo di contaminazione degli sporigeni

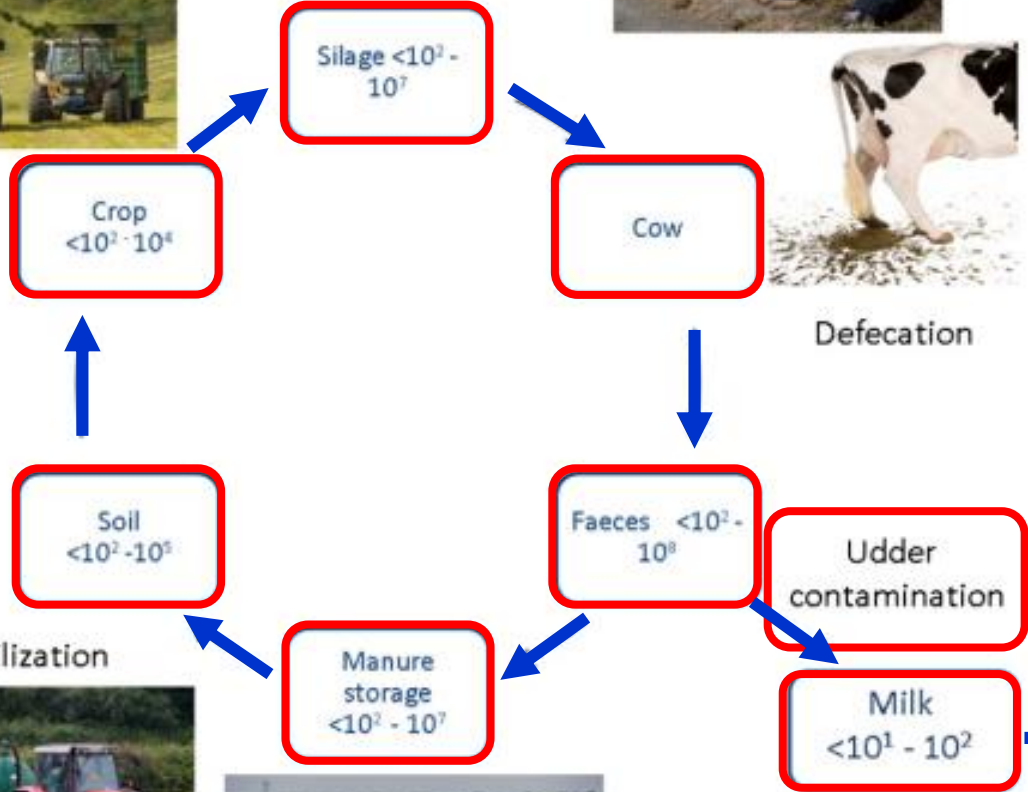
Harvesting and ensiling



Silage consumption



Defecation



rischi igienici per i formaggi

International Journal of Food Microbiology 197 (2015) 77–87

Contents lists available at ScienceDirect



International Journal of Food Microbiology

journal homepage: www.elsevier.com/locate/ijfoodmicro

Review

Anaerobic sporeformers and their significance with respect to milk and dairy products

Conor J. Doyle^{a,b}, David Gleeson^c, Kieran Jordan^d, Tom P. Beresford^d, R. Paul Ross^{a,e}, Gerald F. Fitzgerald^{b,e}, Paul D. Cotter^{a,e,*}

Qualità dell'insilato influenzata da:

- quantità di terreno raccolta: ottimale < 1% (media spore nel terreno 3-5 log/g)
- attività fermentativa → acidificazione

Sporigeni possono crescere e aumentare di numero

→ durante la fermentazione

(se lenta e insufficiente)

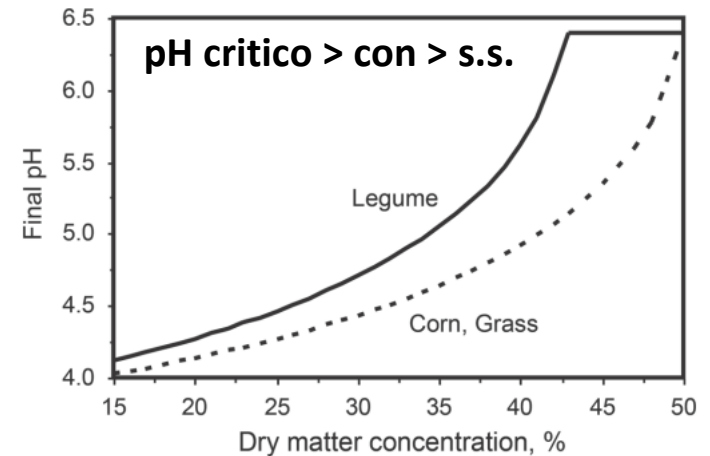
→ durante deterioramento aerobico

- spore di clostridi butirrici nei foraggi:

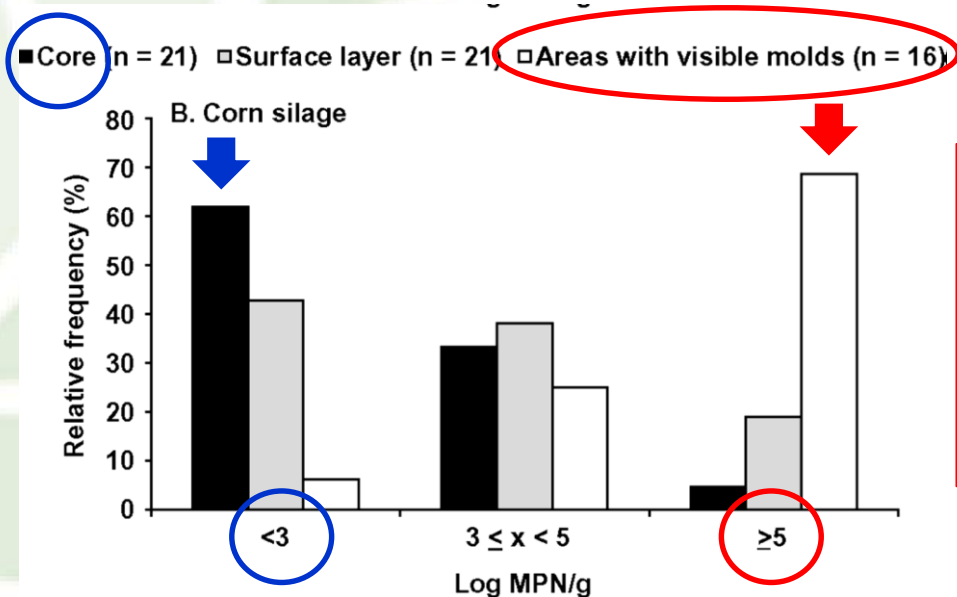
- da 10 - 100 /g nei vegetali freschi e fieni
- da 100 - 10000 /g negli insilati (non aperti)
- da 1 - 10 milioni /g negli insilati deteriorati (solo in piccole zone «hot spots»)

Fattori che inibiscono la crescita dei clostridi

pH	< 4,2
s.s.	> 45%
Aw	< 0,95



➤ n° spore nell'insilato forte incidenza su n° spore nella razione



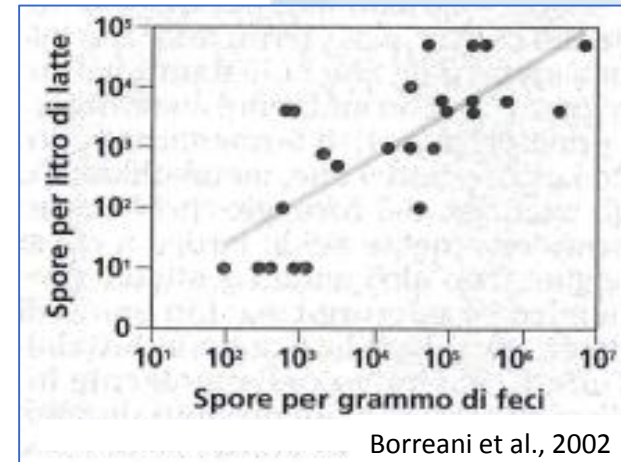
Una piccola porzione di insilato deteriorato compromette la qualità della razione:
10% con spore > 5 log/g
→ razione > 4 log/g

J. Dairy Sci. 90:928-936
© American Dairy Science Association, 2007.

Concentrations of Butyric Acid Bacteria Spores in Silage and Relationships with Aerobic Deterioration

M. M. M. Vissers,*¹ F. Driehuis,* M. C. Te Giffel,* P. De Jong,† and J. M. G. Lankveld‡

+ spore negli insilati
 → + spore nelle feci
 → + spore nel latte

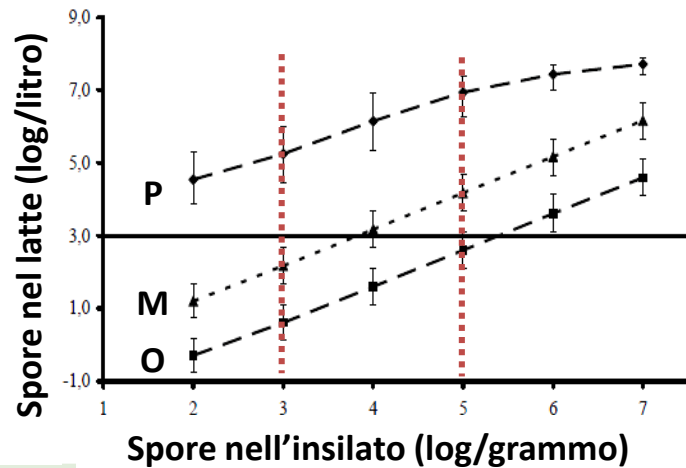


- determinante la concentrazione dei microrganismi nello sporco (Vissers, 2007):
 → spore nelle feci da 10^2 a 10^6 /g (fattore 10000)
 → quantità di sporco trasmesso al latte da 3 a 300 mg/L (fattore 100)
- spore nel latte più influenzate da numero di spore nelle feci che dalla quantità di sporco trasmesso
- più efficiente ridurre la concentrazione di spore nelle feci che massimizzare l'efficacia della pulizia

J. Dairy Sci. 90:3579–3582
 doi:10.3168/jds.2006-633
 © American Dairy Science Association, 2007.

Short Communication: Quantification of the Transmission of Microorganisms to Milk via Dirt Attached to the Exterior of Teats

M. M. M. Vissers,*¹ F. Driehuis,* M. C. Te Giffel,* P. De Jong,† and J. M. G. Lankveld‡



MSL Maximum Spore Limit
valore soglia per limitare
problemi in caseificazione

- ✓ spore $< 10^3/g$ → normale pulizia capezzoli → $< 10^3$ spore/L latte
- ✓ spore $> 10^5/g$ → quasi impossibile assicurare $< 10^3$ spore/L latte $< \mathbf{MSL}$
- ✓ spore $10^3 - 10^5/g$ → non mungere vacche molto sporche, > igiene capezzoli

Foraggi non insilati sono anch'essi «portatori» di spore batteriche.

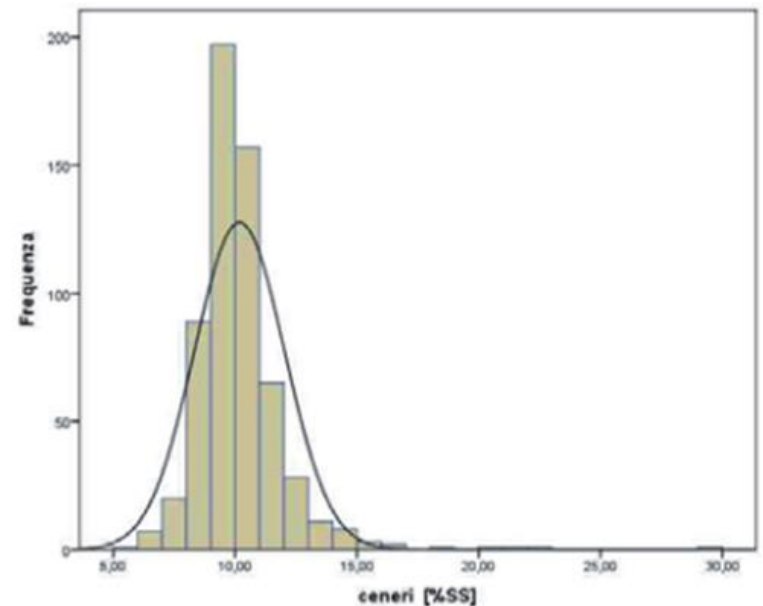
- inquinamento correlato alla quantità di terra (imbrattamento per piogge battenti/allagamenti o per falciatura troppo vicina al terreno)
- + terra nella razione / + spore nel fieno / + spore nelle feci / >> contaminazione ambientale / + spore nel latte durante mungitura / >> rischi di gonfiore tardivo del formaggio

Parametro indice di inquinamento da terra: Ceneri (< 11% su S.S.)

Indagine CRPA su 624 campioni di fieni del comprensorio Parmigiano Reggiano:

Valore medio ceneri: 10,2% su SS

- 53% campioni sotto al 10%
- 20% campioni sopra l'11%



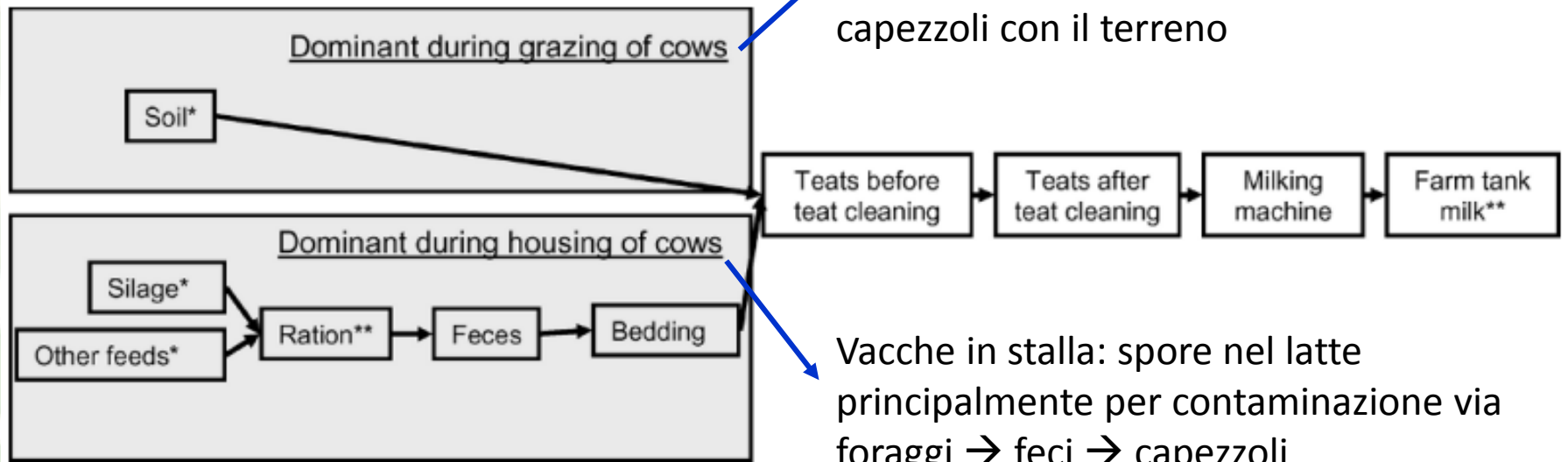
Distribuzione del contenuto di ceneri in 624 campioni di fieno utilizzati nel Comprensorio del Parmigiano Reggiano

Bacillus

- bacilli sporigeni aerobi, Gram +
- specie di *Bacillus* più preoccupante → *B. cereus* (produce tossine durante la crescita)
- cresce in presenza di O₂ in un ampio intervallo di temperature 7°- 45°C e pH > 5,4
- potenziale rischio per latte pastorizzato e prodotti non fermentati in caso di conservazione prolungata in condizioni di abuso termico

Bacillus

Ciclo di contaminazione delle spore



Vacche al pascolo: spore nel latte principalmente per contaminazione dei capezzoli con il terreno

Vacche in stalla: spore nel latte principalmente per contaminazione via foraggi → feci → capezzoli

- foraggi/insilati 10^1 - 10^4 spore/g
 → deterioramento aerobico 10^5 - 10^8 spore/g
 → nel latte $<10^2$ - 10^4 spore/ml
- Numero di spore nel latte dipende dal numero di spore nello sporco (feci/lettiera) e dalla quantità di sporco attaccato ai capezzoli

Batteri non sporigeni

Listeria monocytogenes (patogeno per uomo e animali – encefaliti, infezioni uterine, aborto)

- Batteri aerobi o anaerobi facoltativi
- *L. monocytogenes* può crescere in un ampio intervallo di temperature (0-45° C), concentrazioni di sale (fino al 12%) e pH (4,3-9,6).
- Elevata tolleranza a condizioni stressanti → sopravvive a lungo in ambienti dove non è in grado di crescere.
- Non resiste a temperature di pastorizzazione

Prodotti a rischio: formaggi a latte crudo a breve maturazione
formaggi molli stagionati (erborinati, a crosta fiorita, a crosta lavata)

Listeria monocytogenes

Insilati noti come fonte di contaminazione di *Listeria* spp.

- presenti a basso numero nel suolo e sui vegetali
- sopravvivenza e crescita negli insilati associata a insufficiente anaerobiosi e scarsa acidificazione → rapida mortalità in condizioni anaerobiche e con pH < 4,4
- Insilati deteriorati principale fonte di infezione per gli animali
- sopravvive al passaggio nel tratto gastrointestinale dell'animale, escreta nelle feci → arrivare nel latte per contaminazione fecale durante mungitura
- meno frequentemente, per via intramammaria a seguito di infezione o mastite asintomatica

Listeria monocytogenes (patogeno per uomo e animali)

Studio americano per verificare l'origine di *L. monocytogenes* nelle aziende

- insilati: 30% positivi
- mangiatoia: 65%
- acqua di abbeverata: 66%
- feci: 43%
- lettiera: 55%
- latte in cisterna: 13%

Conclusioni:

contaminazione del latte con *L. monocytogenes* può essere controllata migliorando le condizioni ambientali, l'igiene in mungitura e in raccolta

Identification of potential on-farm sources of *Listeria monocytogenes* in herds of dairy cattle

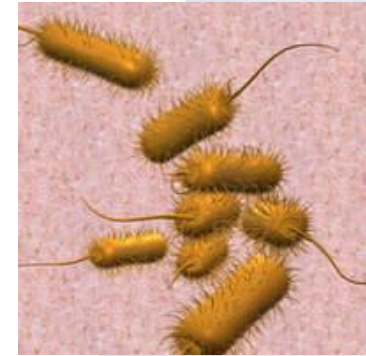
Hussni O. Mohammed, BVSc, MPVM, PhD; Korana Stipetic, DVM; Patrick L. McDonough, PhD;
Ruben N. Gonzalez, DVM, PhD; Daryl V. Nydam, DVM, PhD; Edward R. Atwill, DVM, MPVM, PhD

Am J Vet Res 2009

Batteri non sporigeni

Enterobatteri (coliformi, *E. coli*, *E. coli* patogeni)

- batteri Gram-negativi, anaerobi facoltativi
- Coliformi, *E. coli* indicatori di scarsa igiene → possono causare gonfiore precoce nei formaggi
- *E. coli* patogeni indici di sicurezza igienica → producono tossine (VTEC, STEC)
- Ciclo: animali/feci/ambiente/latte
- non resiste alla pastorizzazione
- → rischio per prodotti a latte crudo



Enterobatteri (coliformi, *Escherichia coli*, *E. coli* patogeni)

- sono la microflora più rappresentata sui foraggi (10^4 - 10^5 /g)
- sopravvivono in condizioni di bassa temperatura e di essiccamento
- negli insilati, competono con i batteri lattici, crescono fino a $\rightarrow 10^8$ - 10^9 /g
- fermentazione lattica \rightarrow pH < 4,5 \rightarrow crescita inibita, carica enterobatteri progressivamente ridotta (< 10^2 /g indice di buona qualità dell'insilato)
(*E. coli* patogeni non sopravvivono se acidificazione rapida e pH basso)
- crescita riprende durante il deterioramento aerobico

Cariche elevate nei foraggi \rightarrow maggiori rischi di contaminazione del latte durante la mungitura

La produzione continua con la trasformazione del latte in formaggio attraverso una serie di operazioni diverse che caratterizzano il tipo di prodotto:

pre-trattamenti del latte → stoccaggio (refrigerazione)
standardizzazione (scrematura)
pastorizzazione

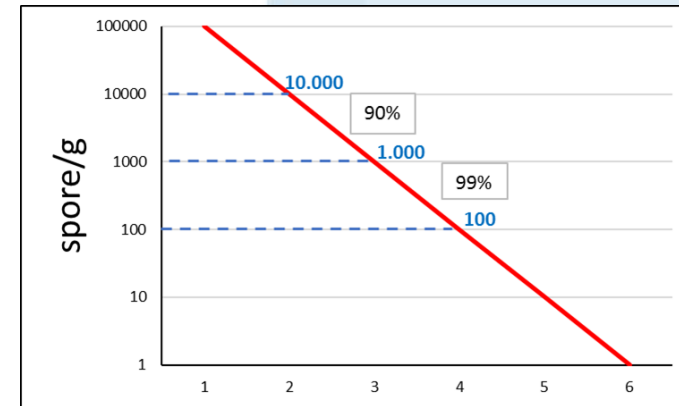
fasi di processo → starter (si, no, naturali, selezionati)
coadiuvanti tecnologici (lisozima)
coagulazione
cottura
acidificazione
salatura
maturazione
stagionatura

Indirizzano il profilo microbiologico e la qualità igienica dei prodotti

Interventi per ridurre il numero di spore nel latte da caseificare:

Rimozione delle spore dal latte:

- affioramento crema (riduzione $\leq 90\%$)
- battofugazione del latte (riduzione $\geq 95\%$)
- microfiltrazione del latte scremato



spore/litro	Giudizio	Rischio
< 200	Ottimo	Molto basso
200 – 1000	Buono	Basso
1000 – 5000	Scadente	Alto
> 5000	Pessimo	Molto alto



Interventi per inibire lo sviluppo di clostridi nel formaggio

✓ **processo di caseificazione** (acidificazione, salatura, temperatura)

Fattori predisponenti lo sviluppo di Clostridi butirrici nei formaggi	
pH	> 4.6 (> 5.3 <i>C. butyricum</i> , <i>C. sporogenes</i>)
temperatura	> 16°C (> 9°C se pH e sale non inibenti)
sale	< 4.5% (fase acquosa) a pH 5; % > a pH + elevati
Aw	> 0.93 (influenzata da rapporto tra umidità e sale)

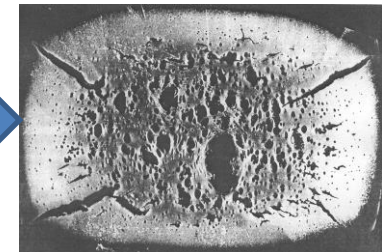


Una corretta combinazione di questi fattori può inibire lo sviluppo delle spore (ogni parametro interagisce strettamente con gli altri)



Aw	pH		
	< 4.6	4.6 – 5.6	> 5.6
< 0.92	NO	NO	NO
0.92-0.95	NO	NO	SI
> 0.95	NO	SI	SI

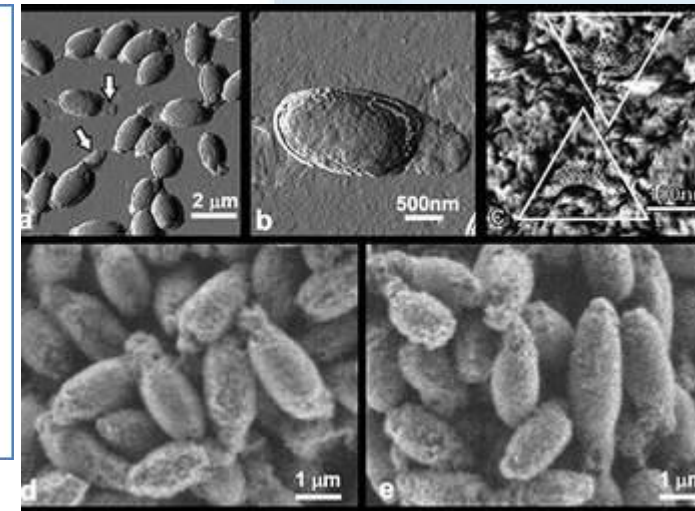
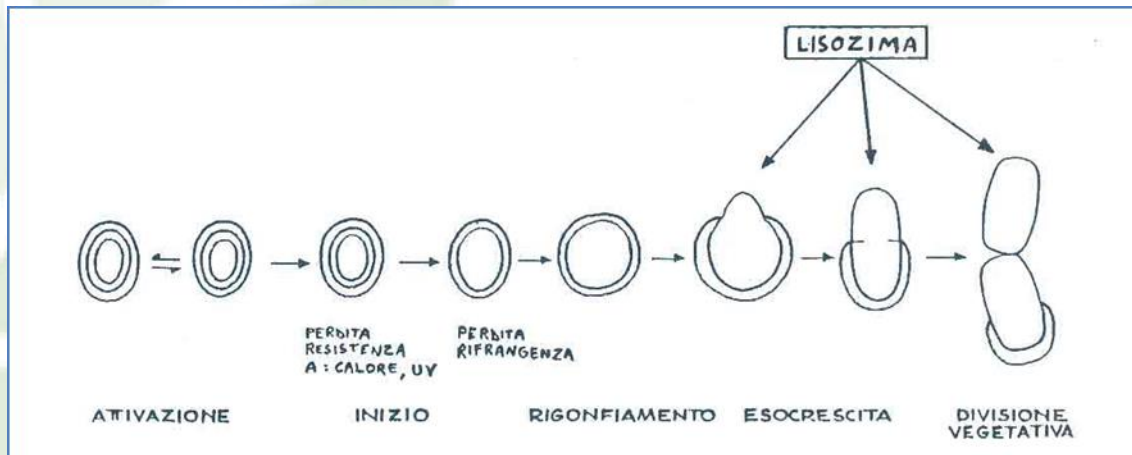
Sale assorbito dall'esterno → centro della forma
> umidità, < sale, > Aw → manifestazione gonfiore da clostridi al centro



Interventi per inibire lo sviluppo di clostridi nel formaggio

- ✓ lisozima (dal 2018 coadiuvante tecnologico)

max 25 mg/kg latte → 250-400 mg/kg di formaggio



- ✓ Bioprotezione → colture di batteri lattici ad attività inibente verso i clostridi

pre-trattamenti del latte: stoccaggio (refrigerazione) → < crescita
pastorizzazione → riduzione/eliminazione

fasi di processo: starter → pH, competizione microbica
cottura → temperatura
salatura → sale (Aw)
stagionatura → tempo

Igiene ambientale:

Prevenzione
Riduzione
Eliminazione

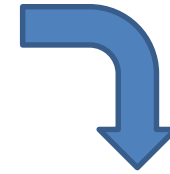


psicrofili

inibizione

mortalità

dai foraggi ai formaggi



Conoscere i fattori che caratterizzano le fasi della filiera, dal campo alla stalla, dalla materia prima al prodotto finito, permette una gestione attiva e consapevole della qualità igienica dei prodotti



Domenico Carminati
CREA-ZA
Centro di ricerca Zootecnia e Acquacoltura
Via Antonio Lombardo 11
26900 Lodi

Tel. 0371 450134

domenico.carminati@crea.gov.it