

UNIVERSITA' DEGLI STUDI DI MILANO Facoltà di Scienze Agrarie e Alimentari

Corso di Laurea in

Valorizzazione e Tutela dell'Ambiente e del Territorio Montano

ANALISI PER LA DETERMINAZIONE DELLA QUALITA' MICROBIOLOGICA E DELLA SHELF LIFE DI MOZZARELLE ARTIGIANALI

Relatore: Prof.ssa Picozzi Claudia

Elaborato finale di:

SPINI VITTORIA

Numero matricola: 02770A

Anno accademico 2023/2024

Indice:

- 1. Introduzione
- 2. Scopo del lavoro
- 3. Materiali e Metodi
- 3.1 Piano di campionamento
- 3.2 Materiali
- 3.3 Metodi
 - 4. Risultati e discussione
 - 5. Conclusioni
 - 6. Bibliografia
 - 7. Sitografia

1. Introduzione

La mozzarella appartiene alla categoria di formaggi cosiddetti a pasta filata. I formaggi a pasta filata rappresentano una varietà caratterizzata dall'applicazione della tecnica basata sulla filatura della cagliata, la quale modifica la struttura fisica della caseina e la sua percezione sensoriale. Tutti questi prodotti hanno delle caratteristiche comuni, quali la filatura della cagliata attraverso l'utilizzo di acqua, l'assenza di crosta e l'assenza di maturazione, motivo per cui sono definiti formaggi freschi.

I prodotti lattiero-caseari freschi, che quindi non subiscono stagionatura, sono caratterizzati da una durata di conservazione ridotta, in quanto sono un ottimo mezzo di crescita per diversi microrganismi. È quindi importante monitorare la qualità microbiologica di tali prodotti. In particolare, la conta e la concentrazione totale vitale di *Escherichia coli* è usata come indicatore dello stato igienico dei prodotti lattiero-caseari. In tali prodotti, come la mozzarella, è molto importante anche il monitoraggio della concentrazione di batteri lattici, caratterizzati dalla capacità di conferire caratteristiche qualitative specifiche. Tali batteri sono inoltre i principali componenti delle colture starter utilizzate frequentemente nel processo produttivo di molti prodotti lattiero-caseari, ma, come verrà spiegato in seguito, non nel caso delle mozzarelle prese in analisi.

Le caratteristiche specifiche della mozzarella provengono principalmente dal latte crudo utilizzato, dalla zona di produzione, dalle condizioni ambientali, dagli strumenti utilizzati e dai produttori (Losito et al., 2014).

Per la lavorazione di prodotti lattiero caseari esistono delle norme igieniche da rispettare, quali ambienti dimensionati in modo da garantirne una corretta pulizia ed evitare il contatto con eventuali contaminati, locali mantenuti in buone condizioni e con pareti e pavimenti facilmente pulibili. È necessario che le attrezzature siano costituite da materiale conforme alla normativa vigente (Reg CE 1935/2004) e che siano facilmente lavabili, disinfettabili e in buono stato di manutenzione. È importante che l'acqua utilizzata in azienda possieda i requisiti

necessari di potabilità previsti dalla norma vigente (D. lgs. 31/01) e che l'impianto interno per la distribuzione dell'acqua sia mantenuto in buone condizioni di manutenzione. Un'ulteriore aspetto da prendere in considerazione è l'igiene e la formazione del personale, il quale deve aver ricevuto un'adeguata preparazione igienico-sanitaria prima dell'inizio dello svolgimento della propria attività lavorativa. Il latte, materia prima per quanto riguarda i prodotti lattiero-caseari, deve essere conservato in ambienti adatti, quali celle frigo a temperature idonee e controllate quotidianamente.

Il latte deve essere conforme ai requisiti igienico-sanitari previsti dal Regolamento (CE) 853/2004. Per quanto riguarda il latte crudo di vacca deve avere parametri di germi a 30°C (per ml) inferiori a 100.000 UFC/ml, tenore di cellule somatiche inferiore a 400.000 cellule/ml e quantità di aflatossina M1 inferiore alla soglia limite di $0.050 \, \mu g/Kg$.

Nel particolare caso di produzione di formaggi a latte crudo il latte non deve presentare cariche di stafilococchi superiori a 2000 UFC/ml e deve rispettare precisi parametri nella fase di stoccaggio, quali temperature adatte per il massimo di ore prestabilito. Oltre le 36 ore di stoccaggio è necessario il trattamento termico di pastorizzazione.

La pastorizzazione è un trattamento di risanamento termico che consiste nell'esposizione del latte crudo a un'elevata temperatura per un breve periodo di tempo, generalmente 71,7°C per 15 secondi con lo scopo di eliminare parte della microflora saprofita del latte e i microrganismi patogeni non sporigeni.

Tale trattamento va effettuato con appropriata attrezzatura in grado di assicurare i parametri di tempo e temperatura previsti dal Reg. (CE) n. 835/2004, ed è importante utilizzare la corretta combinazione di Tempo/Temperatura in modo da limitare la presenza di agenti patogeni, ma non superare i limiti critici e non compromettere i valori nutrizionali del prodotto.

I campioni di mozzarella che sono stati presi in analisi sono prodotti dall'Azienda Agricola Ciappesoni. Tale azienda nasce nel 1974 come una piccola realtà, ora gestisce circa 300 capi di vacche da latte di razza bruna.

L'azienda destina una parte del latte alla produzione di burro, formaggio semi grasso, ricotta, yogurt, mozzarella; dispone di uno spaccio alimentare in loco, in cui vende direttamente al consumatore tutti i prodotti. L'altra parte di produzione è invece venduta come latte ad alta qualità per la produzione di Grana Padano.

La mozzarella appartiene alla categoria dei formaggi a pasta filata. Tale categoria si distingue per un trattamento di plastificazione e gramolatura della cagliata fresca in acqua calda, che conferisce al prodotto finito la sua caratteristica struttura fibrosa e la proprietà di fusione e filatura (Mijan et al., 2010).

La lavorazione della loro mozzarella avviene a latte crudo attraverso il processo di acidificazione con acido citrico ($C_6H_8O_7$). L'acido citrico è un acido organico con la capacità di portare il valore del pH a 5.6/5.8 e renderlo così ottimale per favorire la rapida coagulazione delle caseine, le principali proteine presenti nel latte. A temperatura del latte inferiore a 11°C vengono aggiunti 1,34 cc/quintale a freddo di acido citrico. È importante che la temperatura del latte sia sotto tale valore altrimenti si verificherebbe filatura precoce.

Dopo aver aggiunto acido citrico si porta ad una temperatura massima di 36°C-37°C e si aggiunge il caglio per ottenere la cagliata. La cagliata va tagliata e agitata in modo da creare una sorta di pellicina. Si lascia riposare sul fondo della caldera fino a quando la pasta risulta compatta.

Quando la pasta è compatta viene rimosso il siero, si toglie la pasta dalla caldera e la si lascia sgocciolare su un piano di lavoro, dove poi avviene la lavorazione.

La pasta viene poi suddivisa in quattro lavorazioni con un mastello, a cui vengono aggiunti circa 200g di sale (NaCl) e dell'acqua per ammorbidirla e favorire la fase della filatura, a temperatura massima di 85°C altrimenti causerebbe la bruciatura della pasta. Segue la filatura, che consiste nello stirare la pasta di cagliata fino ad avere consistenza plastica e formabile, dalla quale si staccano pezzi tondeggianti

a cui viene fatto il nodino. La cagliata fusa e filata, grazie alle sue caratteristiche plastiche può assumere le forme desiderate. Finita la fase della formatura le mozzarelle vengono raffreddate per alcuni minuti in acqua fredda e poi posizionate in acqua ancora più fredda per il rassodamento finale.

La mozzarella viene conservata in mastelli contenenti liquido di governo, una soluzione salina composta da circa 100g di sale e 10L di acqua, fino alla vendita. La conservazione della mozzarella è favorita dalla soluzione salina, che ne preserva la sapidità e la mineralizzazione degli strati superficiali del prodotto (Faccia et al., 2011).

Per questo prodotto l'azienda raccomanda una *shelf-life* che va dai 5 ai 7 giorni. Le analisi dei campioni sono state svolte a distanza di 7 giorni tra prodotto fresco e prodotto giunto a scadenza.

2. Scopo del lavoro

Questo elaborato è frutto dell'attività di tirocinio, svolto da maggio 2024 a settembre 2024, a compimento del corso di laurea in Valorizzazione e Tutela dell'Ambiente e del Territorio Montano.

Il tirocinio è stato svolto a Milano, presso il Dipartimento di Scienze per gli Alimenti, la Nutrizione e l'Ambiente (DeFENS) dell'Università degli Studi di Milano.

Tale esperienza è stata utile per poter mettere in pratica le nozioni acquisite durante il percorso di studi, nel campo della microbiologia, e per avere una reale esperienza in ambiente lavorativo, il laboratorio, in cui testare le capacità acquisite.

Lo scopo dello studio svolto è stato quello di analizzare i microrganismi presenti in un prodotto di caseificazione da latte vaccino fresco e al termine della *shelf-life* dichiarata.

Lo studio è stato svolto su cinque campioni di mozzarella appena prodotti e nei medesimi cinque campioni giunti a scadenza (dopo 7 giorni dalla produzione), così da poter evidenziare le variazioni verificatesi in tale periodo e quindi consolidarne la shelf-life.

L'obiettivo di tale ricerca è quello di incrementare la conoscenza su questo argomento e mostrarne la variazione con il trascorrere del tempo.

Le informazioni derivanti da questo lavoro potrebbero contribuire a migliorare le modalità di gestione e conservazione dei prodotti dell'Azienda Agricola Ciappesoni, produttrice dei prodotti analizzati.

3. Materiali e Metodi

3.1 Piano di campionamento

Sono stati prelevati 5 campioni di mozzarella ottenuta da latte non pastorizzato e prodotti presso l'Azienda Agricola Ciappesoni. I campioni sono stati analizzati sia al giorno di produzione, chiamato giorno 0, sia al giorno di scadenza, definito giorno 7.

Ogni campione (*Tabella 1*) è stato identificato attraverso una precisa sigla, che indica il numero del campione e il giorno di analisi.

Campione analizzato	Giorno 0	Giorno 7
Campione 1	C10	C17
Campione 2	C20	C27
Campione 3	C30	C37
Campione 4	C40	C47
Campione 5	C50	C57

Tabella 1 - Identificazione dei campioni analizzati.

3.2 Materiali

Sono stati utilizzati quattro diversi terreni: TBX, M17, PSM e MRS (Figura 1).



Figura 1 - Terreni in fase di preparazione.

Il terreno di coltura TBX (Tryptone Bile X-GLUC Agar) è un terreno selettivo per il conteggio di *Escherichia coli*. L'azione selettiva è dovuta alla presenza dei sali biliari che inibiscono i batteri Gram positivi, mentre l'azione differenziale è definita dal substrato X-Glucuronide, l'idrolisi del quale, attraverso l'azione dell'enzima betaglucuronidasi, dà luogo alla formazione di un pigmento blu-verde (*Figura 2*).

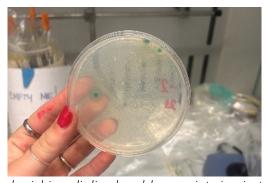


Figura 2 - Coltura di Escherichia coli di colore blu cresciuta in piastra di Petri con terreno TBX. Il terreno di coltura M17 (M 17 Agar) è utilizzato nell'industria lattiero-casearia per il conteggio degli Streptococchi lattici. Per la preparazione di questo terreno è stata necessaria l'aggiunta di lattosio in proporzione 1:10, successivamente alla sterilizzazione in autoclave. Tale processo è stato svolto sterilizzando il lattosio attraverso l'utilizzo di un filtro perché, essendo uno zucchero, andrebbe incontro a caramellizzazione se sottoposto ad alte temperature.

Il terreno di coltura PSM (Pseudomonas Agar) è un terreno selettivo per la ricerca di *Pseudomonas* spp. Nella preparazione di tale terreno, dopo la sterilizzazione in autoclave, è necessaria l'aggiunta del supplemento CFC, a cui aggiungere 1ml di acqua (H₂O) e 1ml di etanolo (EtOH). CFC (*Pseudomonas*) Supplement è un supplemento selettivo per l'isolamento di *Pseudomonas spp*, costituito da una miscela liofilizzata di Cetrimide, Acido Fusidico e Cefaloridina. È utilizzato per l'arricchimento selettivo del terreno ed è importante addizionarlo in seguito alla sterilizzazione perché contiene sostanze vulnerabili alle alte temperature.

Il terreno di coltura MRS (MRS Agar) è un terreno selettivo usato per la conta dei *Batteri lattici*. Tale selettività è data dal sodio citrato e dall'ammonio solfato, quest'ultimo a bassi valori di pH permette la crescita dei *Batteri lattici*, i quali sono caratterizzati da colonie piccole, opache e bianche. I *Batteri lattici* sono anaerobi aerotolleranti, riescono a crescere cioè in presenza di ossigeno grazie alla presenza di enzimi detossificanti, ma prediligono condizioni di anaerobiosi per una crescita più efficiente. È stata quindi utilizzata una giara da anaerobiosi (*Figure 3 e 4*) per la loro coltivazione.





Figure 3 e 4 - Incubazione in anaerobiosi delle piastre di Petri con terreno MRS.

3.3 Metodi

Il metodo utilizzato per le analisi dei campioni è quello della conta in piastra, secondo il quale porzioni pesate vengono omogeneizzate per consentire l'allestimento di diluizioni seriali successivamente piastrate in specifici terreni agarizzati. Questo metodo permette di determinare il numero di unità formanti colonie (UFC), o colonie microbiche vitali.

Attraverso l'utilizzo di una bilancia da cucina sono stati pesati tra i 5g e i 10g di mozzarella in un sacchetto sterile, a cui è stata aggiunta una quantità di citrato (citrato di sodio tribasico 2%) pari alla quantità di mozzarella pesata nel sacchetto moltiplicata per 9. In modo da ottenere una prima diluizione. La soluzione nel

sacchetto è resa omogenea attraverso l'utilizzo di uno Stomacher (*Figura 5*) per circa 2 minuti.



Figura 5 - macchinario Stomacher per l'omogeneizzazione della soluzione.

Seguono poi le opportune diluizioni decimali in soluzione fisiologica (9g di NaCl in 1l di acqua distillata, pH 7) e il piastramento secondo la tecnica della semina in superficie (Spread technique). Questa tecnica consiste nello spatolamento superficiale di 0,1 ml di sospensione su terreno agarizzato pronto (*Figura 6*).



Figura 6- Spatolamento della diluizione in piastra di Petri.

Ogni analisi è stata svolta in doppio.

Nelle piastre sono state utilizzate diluizioni di fattore diverso in base al terreno di coltura presente (*Tabella 2*).

Terreni	Giorno di analisi			
di	Giorno 0	Giorno 7		
Coltura	Diluizione			

TBX	-2	-3	-4	-2	-3	-4
M17	-3	-4	-5	-3	-4	-5
PSM	-4	-5	-6	-4	-5	-6
MRS	-2	-3	-4	-3	-4	-5

Tabella 2 - fattore di diluizione presente nelle diverse piastre in base al terreno di coltura.

Le piastre di TBX sono state incubate a 42°C, quelle di PSM a 30°C, quelle di M17 a 37°C e quelle di MRS a 37°C ma in anaerobiosi, cioè in assenza di ossigeno.

La lettura delle piastre di Petri è stata svolta a 48 ore dall'analisi. La lettura consiste nell'attenta osservazione delle piastre e nella conta delle colonie caratteristiche per ogni terreno utilizzato.

Nella conta è necessario rispettare determinati criteri e utilizzare una formula per giungere ad un risultato.

Tale formula è
$$\frac{\sum colonie}{[(1\cdot n_1)+(0.1\cdot n_2)]\cdot d}=UFC/g$$

con

∑colonie: somma delle colonie nelle piastre considerate

 n_1 numero di piastre della prima diluizione considerata;

 n_2 numero di piastre della seconda diluizione considerata;

d fattore di diluizione della prima diluizione considerata.

Vengono considerate le piastre (*Figura 7*) che presentano almeno 10 colonie e non più di 300.

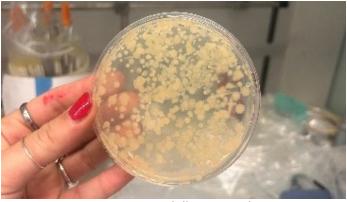


Figura 7 - Lettura delle piastre di Petri.

4. Risultati e discussione

Dalla lettura delle piastre di Petri sono stati ricavati i risultati del lavoro svolto. Tali risultati (*Tabella 3*) sono espressi secondo l'unità di misura UFC/g,

Campioni	Escherichia	Streptococchi	Pseudomonas	Batteri lattici
	coli (UFC/g)	lattici (UFC/g)	spp. (UFC/g)	(UFC/g)
C10	<10 ²	2.6 x 10 ⁴	>3 x 10 ⁸	3.3 x 10 ⁵
C17	<10 ²	2.1 x 10 ⁶	1.1 x 10 ⁷	1.5 x 10⁵
C20	<10 ²	2.6 x 10 ⁵	2.0 x 10 ⁵	8 x 10 ³
C27	<10 ²	>3 x 10 ⁷	1.3 x 10 ⁷	1.2 x 10 ⁶
C30	<10 ²	9.3 x 10 ⁴	5 x 10 ⁴	8.7×10^3
C37	<10 ²	>3 x 10 ⁷	2.3×10^7	6.1 x 10 ⁶
C40	<10 ²	1.4 x 10 ⁶	3.3 x 10 ⁶	2.5 x10 ⁴
C47	3.5×10^2	>3 x 10 ⁷	4×10^7	4.3 x 10 ⁶
C50	<10 ²	6.5 x 10 ⁴	4.2 x 10 ⁵	6.5 x 10 ⁴
C57	<10 ²	>3 x 10 ⁷	2.6 x 10 ⁸	1.6 x 10 ⁶

Tabella 3 - Risultati ottenuti dalla lettura delle piastre di Petri.

I seguenti grafici illustrano i valori in microrganismi ottenuti per ogni campione analizzato. In particolare è messa in evidenza la situazione microbica di ogni campione al giorno 0, nonché giorno di produzione, e al giorno 7, giorno di scadenza stabilito dall'azienda.

l valori rappresentati nei sottostanti grafici sono espressi in $log_{10}(\frac{\it UFC}{\it g})$.

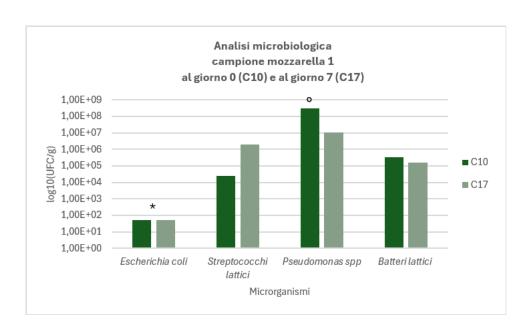


Figura 8 - Valori analisi su Campione 1.

Nell'analisi svolta sul primo campione di mozzarella (*Figura 8*), ma in generale nelle analisi di tutti i cinque campioni, è evidente un'elevata contaminazione da *Pseudomonas spp*. Tali batteri in grado di crescere in modo ottimale a 25°C, ma possono moltiplicarsi anche a temperature di refrigerazione (psicrotrofi), costituendo fino al 90% della flora batteriche presente in un alimento (De Jonghe et al., 2011).

Le Pseudomonadaceae sono facilmente presenti sugli animali da allevamento e nei prodotti da essi derivati, data la loro presenza nel suolo, nelle acque di scorrimento superficiale e sui vegetali. Sono frequenti le contaminazioni del latte in allevamento e le cause possono essere il contatto con acque contaminate o con le superfici dei tank di refrigerazione contaminati; anche la fase di mungitura è molto delicate perché il latte viene a contatto con diverse superfici.

In particolare nella produzione di mozzarella, il latte è contaminato dalle acque di processo utilizzate durante la lavorazione cioè dalle acque utilizzate nella fase di formatura, soprattutto se non cambiata frequentemente.

Non sono descritti, nell'uomo, a seguito del consumo di alimenti, casi di malattia riconducibili alle Pseudomonadaceae. Essendo un microrganismo non patogeno

^{*} numero di colonie inferiori a 10² UFC/g.

[°] numero di colonie superiore a 3 x 10⁸ UFC/g.

per via alimentare, non è stato sino ad oggi preso in considerazione nella legislazione Europea e Nazionale e quindi non sono stati stabiliti limiti di accettabilità negli alimenti (Civera et al., 2011).

Nel giugno 2010 ha assunto particolare rilevanza il caso della mozzarella blu. Le mozzarelle blu, verdastre o fluorescenti sono dovute ai pigmenti prodotti da *Pseudomonas spp.* I principali responsabili sono i ceppi di *Pseudomonas fluorescens*. Come detto in precedenza, tali microrganismi non incidono sulla sfera della salute pubblica, ma le problematiche collegate alle anomale colorazioni hanno assunto un forte impatto sulle percezioni di livelli di sicurezza alimentare da parte del consumatore.

Tenendo conto delle caratteristiche di *Pseudomonas spp.* e considerando le alterazioni in formaggi riconducibili a tale microrganismo sarebbe opportuno individuare dei limiti da rispettare.

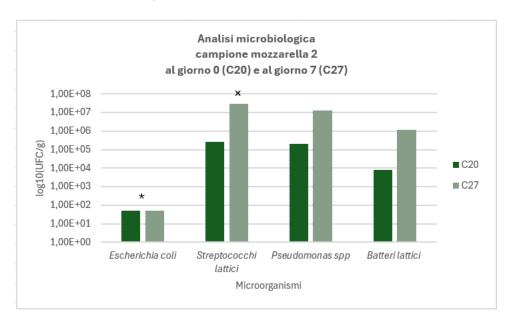


Figura 9 - Valori analisi su Campione 2.

*numero di colonie inferiore a 10² UFC/g.

* numero di colonie superiore a 3 x 10² UFC/g.

Gli *Streptococchi lattici* sono batteri produttori di acido, nutrizionalmente esigente, che richiedono terreni complessi per una crescita ottimale. Sono molto utilizzati come colture starter nell'industria lattiero-casearia, ma non è questo il nostro caso.

Nella produzione della mozzarella esaminata non sono utilizzati starter lattici quindi, sulla base delle analisi svolte, non si può sapere con precisione quali specie siano effettivamente presenti all'interno del prodotto. È evidenziato il risultato di tale valore nell'analisi del campione numero 2 (*Figura 9*) giunto a scadenza, il quale potrebbe essere elevato per la presenza di tali batteri nel latte in precedenza alla lavorazione, che non subisce alcun trattamento termico e quindi i microrganismi restano vitali.

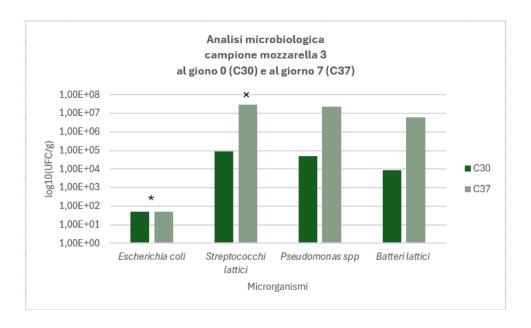


Figura 10 - Valori analisi su Campione 3.

^{*} numero di colonie inferiore a 10² UFC/g.

 $^{^{}x}$ numero di colonie superiore a 3 x 10 7 UFC/g.

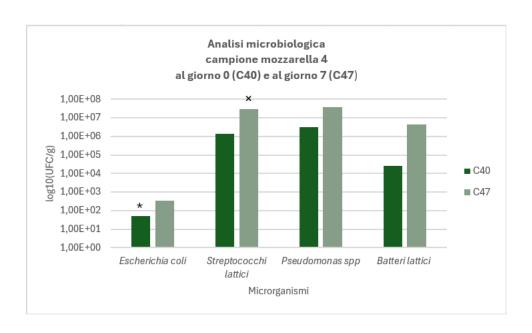


Figura 11 - Valori analisi su Campione 4.

* numero di colonie inferiore a 10² UFC/g.

 x numero di colonie superiore a 3 x 10 7 UFC/g.

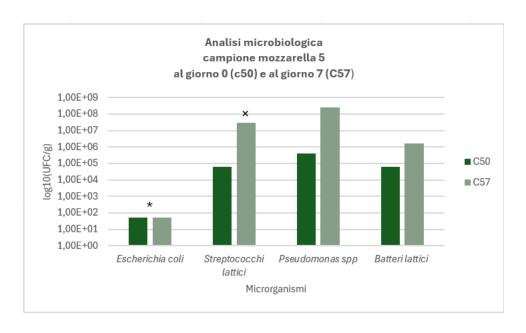


Figura 12 - Valori analisi su Campione 5.

Come si può notare da tutte le analisi (*Figure 8, 9, 10, 11 e 12*), i valori di microrganismi crescono in relazione al trascorrere dei giorni dalla produzione. Ciò

^{*} numero di colonie inferiore a 10² UFC/g.

 $^{^{}x}$ numero di colonie superiore a 3 x 10 7 UFC/g.

avviene per le condizioni presenti nell'alimenti, quali temperatura, presenza di ossigeno, presenza di acqua e di nutrienti.

Nel particolare caso della mozzarella, l'aumento di microrganismi è favorita dal liquido di governo, che in fase di frigo-conservazione favorisce la crescita di tali organismi e riduce la *shelf-life* del prodotto.

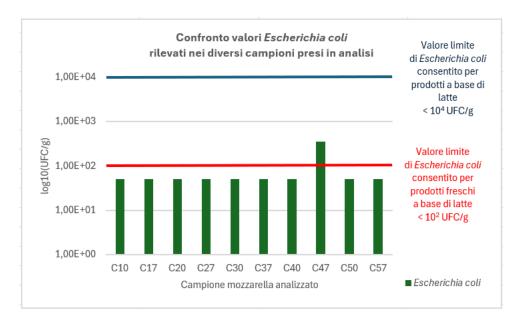


Figura 13 - Confronto valori Escherichia Coli rilevati in tutti i Campioni con riferimento al valore limite consentito per la produzione lattiero-casearia analizzata.

Sono stati rappresentati i valori di *Escherichia coli* rilevati dall'analisi di tutti i campioni analizzati (*Figura 13*) in quanto valore molto importante per la determinazione della qualità dell'alimento. È messo in evidenza il limite massimo consentito di tale microrganismo all'interno di prodotti a base di latte secondo i valori guida dichiarati dal reg.CE 2073/2005 e s.m.i. Essendo la mozzarella un formaggio fresco, il valore di *Escherichia coli* per essere accettabile dovrebbe essere < 10² UFC/g, considerando tutti i valori ottenuti dalle differenti analisi si evidenzia un valore superiore al limite di accettabilità (Linee guida per l'analisi del rischio nel campo della microbiologia degli alimenti 10.6 pag.27).

Come accennato in precedenza, la conta e la concentrazione totale vitale di *Escherichia coli* viene utilizzato come indicatore dello stato igienico dei prodotti lattiero caseari (Losito et al., 2014). Gli *Escherichia coli* sono organismi commensali

che risiedono all'interno dell'intestino ospite, motivo per cui tali organismi sono essenzialmente non patogeni. Al loro interno possono però esistere delle forme patogene riconosciute come la causa di patologie più o meno gravi. Tali patologie possono localizzarsi in diversi organi, causando infezioni alle vie urinarie, ma anche quadri più severi come polmoniti, meningiti e setticemie, e colpiscono in particolare bambini e soggetti sensibili.

5. Conclusione

Per l'elevata contaminazione da *Pseudomonas spp.* è necessario prestare maggiore attenzione alle acque utilizzate durante il processo di lavorazione e conservazione. Nella fase di conservazione, avvenendo questa in mastelli con liquido di governo fino al momento della vendita, è opportuno cambiare il liquido di governo periodicamente in modo da evitare il diffondersi delle Pseudomonadaceae. Infatti la mozzarella, immersa nel liquido di conservazione, tende a rilasciare microrganismi in esso, i quali tendono a diffondersi e a contaminare i successivi cicli di produzione. Questo problema può essere semplicemente risolto con la sostituzione periodica del liquido di governo, in modo da non favorire lo svilupparsi di ulteriori ceppi di *Pseudomonas spp.*

Per prolungare la *shelf-life* della mozzarella vaccina è importante la composizione della soluzione salina in cui viene conservata. Come detto da Faccia nel suo documento scientifico inerente alla *shelf-life* (Faccia et al., 2011), sono state testate due differenti soluzioni saline a pH differente che potrebbero essere utili al prolungamento della durata del prodotto. In base alla tipologia di lavorazione utilizzata, è quindi importante trovare il corretto metodo di conservazione per garantire maggiore durabilità al prodotto.

Analizzando la qualità del prodotto risulta evidente un'elevata contaminazione causata da condizioni igienico-sanitarie non sufficienti, la soluzione potrebbe essere quella di limitare la contaminazione prima della produzione attraverso il trattamento termico della pastorizzazione perché il solo processo di plastificazione non sempre è in grado di distruggere i patogeni.

L'obiettivo della pastorizzazione è quello di eliminare o ridurre significativamente i microrganismi patogeni presenti degli alimenti, senza comprometterne i valori nutrizionali. Per prodotti lattiero-caseari è utilizzato il metodo di pastorizzazione a bassa temperatura e lunga durata (LTLT), svolta ad una temperatura inferiore a 63°C per un tempo che va dai 30 ai 60 minuti. La pastorizzazione può essere

eseguita sia in caldera che in un apposito pastorizzatore. Per garantire la massima efficacia del processo è necessario un pastorizzatore, che ha costi elevati. In una caldera purtroppo è più difficile garantire un riscaldamento uniforme e il controllo preciso di Tempo/Temperatura, potrebbe quindi essere compromessa la qualità del latte pastorizzato o la sicurezza alimentare.

Le analisi microbiologiche, obbligatorie dalla legge, rappresentano un importante strumento per valutare il livello di sicurezza e di igiene degli alimenti. Tali analisi necessitano però di un laboratorio per essere svolte, e molto spesso nelle piccole realtà non si ha questa disponibilità. Le industrie lattiero-casearie di solito non sono in grado di monitorare autonomamente i parametri microbiologici del latte crudo, degli intermedi e dei prodotti finali. Negli ultimi anni si è alla ricerca di soluzioni, poco dispendiose a livello economico e temporale, che consentano il monitoraggio della situazione microbiologica durante la fase di produzione in modo da avere un quadro completo. Un efficiente metodo per aumentare la qualità dei prodotti lattiero-caseari è quello colorimetrico dell'MBS (Metodo Micro Biological Survey), basato sulla misurazione dell'attività catalitica di enzimi, che permettono l'osservazione del cambiamento di colore del brodo di coltura in cui viene inserito il campione con variazioni in presenza di microrganismi e con la loro crescita, maggiore è la quantità presente e più rapido è il cambiamento di colore. È un sistema veloce ed efficacie per la rilevazione e la conta selettiva di batteri in campioni agroalimentari che può essere utilizzato senza un laboratorio microbiologico (Losito et al., 2014). Chiaramente non è questo un metodo che può sostituire le analisi microbiologiche imposte dalla legge, ma può risultare utile al produttore per avere sempre chiara la situazione delle sue produzione e per potersi migliorare.

6. Bibliografia

- Civera T., Griglio B., Marro S., Piovesan F., Testa A., 2011. Alterazioni organolettiche negli alimenti causate da Pseudomonadaceae. Possibili ricadute per la sanità pubblica. Associazione Italiana Veterinaria Medicina Pubblica newsletter n.2, Aprile 2011.
- De Jonghe V., Coorevits A., Van Hoorde K., Messens W., Van Landschoot A., De Vos P. e Heyndrickx M., 2011. Influence of Storage Conditions on The Growth of Pseudomonas Species in Refrigerated Raw Milk. Applied and environmental Microbiology, 460-470.
- Faccia M., Trani A., Loizzo P., Gambacorta G., Ruppi G., Di Luccia A., 2011. Shelf life della mozzarella vaccina conservata in soluzioni saline. Scienza e Tecnica Lattiero Casearia, 62 (3): 167-171.
- Jana A.H. e Mandal P.K., 2011. Manufacturing and Quality of Mozzarella Cheese: A Review. International Journal of Dairy Science, 6 (4): 199-226.
- Losito F., Arienzo A., Bottini G., Priolisi F.R., Mari A., e Antonini G., 2014. Microbiological safety and quality of Mozzarella cheese assessed by the microbiological survey method. Journal of Dairy Science, 97: 46-55.
- Mijan M.A., Haque M.A., Habib M.A. and Wadud M.A., 2010. Evaluation of quality of Mozzarella cheese. The Bangladesh Veterinarian (2010), 27(1): 36-42.
- Mucchetti g. e Neviani E., 2006. Microbiologia e Tecnologia lattiero-casearia, Tecniche Nuove. Qualità e Sicurezza pag. 336, 337, 349.

7. Sitografia

- Criteri microbiologici per prodotti alimentari a base di latte crudo, pag.9. https://www.cerisa.org
- Decreto Legislativo 2 febbraio 2001, n. 31. Attuazione della direttiva 98/83/CE relativa alla qualità delle acque destinate al consumo umano. https://www.gazzettaufficiale.it
- Linee guida per l'analisi del rischio nel campo della microbiologia degli alimenti 10.6 pag.27. https://www.cerisa.org
- Istituto di Ricovero e Cura a Carattere Scientifico (IRCCS) Ospedale San Raffaele, pubblicazione del 21 novembre 2022. https://hsr.it
- Manuale di buone prassi per le produzioni lattiero casearie https://www.izsvenezie.it
- Manuale Europeo di buone passi di Igiene nella produzioni di formaggi artigianali e prodotti lattiero-caseari. https://aslvco.it
- Pastorizzazione del latte. https://www.clal.it
- Pastorizzazione e Microbiologia. https://www.microbiologiaitalia.it
- Regolamento (CE) n. 853/2004 del Parlamento Europeo e del Consiglio del 29 aprile 2004, che stabilisce norme specifiche in materia di igiene per gli alimenti di origine animale. https://eur-lex.europa.eu
- Regolamento (CE) n. 1935/2004 del Parlamento Europeo e del Consiglio del 27 ottobre 2004, riguardante i materiali e gli oggetti destinati a venire a contatto con i prodotti alimentari e che abroga le direttive 80/590/CEE e 89/109/CEE. https://eur-lex.europa.eu