

PROFILO MICROBIOLOGICO DI LATTE DI ASINE ALLEVATE IN CAMPANIA: INDAGINE PRELIMINARE

MICROBIOLOGICAL CHARACTERISTICS OF MILK FROM DONKEYS FARMED IN CAMPANIA REGION: PRELIMINARY RESULTS

Sarno E.¹, Costanzo N.², Di Palo R.¹, Santoro A.¹

¹Dipartimento di Scienze Zootecniche e Ispezione degli Alimenti, Università degli Studi di Napoli "Federico II".

²Dipartimento di Medicina Sperimentale e Clinica "Gaetano Salvatore", Università degli Studi "Magna Græcia" di Catanzaro.

SUMMARY

Interest in donkey's milk destined to human consumption is increasing owing to its complex composition and unique functional properties. The microbiological profile of donkeys' raw milk was investigated. Individual donkey milk samples were collected from 8 asses after mechanical milking and filtration in a farm of Campania region. A total of 133 samples were analyzed. Total plate count bacteria and *Enterobacteriaceae* were enumerated. Other microbiological characteristics were monitored as established by legislation in force on the sale of raw milk. Results showed a low contamination level of the raw milk in accordance with other authors. No correlations were evidenced between milk contamination and lactation stage.

KEYWORDS

donkeys' milk, microbiological contamination.

INTRODUZIONE

Il consumo di latte d'asina è notevolmente aumentato nell'ultimo decennio a seguito del notevole interesse che questo alimento ha suscitato quale sostituto del latte vaccino nell'alimentazione dei soggetti allergici. Le proprietà terapeutiche di questo prodotto sono note da secoli. Anche Plinio il Vecchio, nella sua enciclopedia *Naturalis Historia*, lo proponeva per combattere svariate patologie, dalle rughe all'asma bronchiale.

Il latte d'asina è ricco di acidi grassi mono e polinsaturi ed ha un rapporto calcio-fosforo e un contenuto proteico totale simile al latte umano. E' ricco, inoltre, di sostanze ad attività probiotica, di fattori di rilascio ormonale, anticorpi e lisozima ed appare caratterizzato da un basso contenuto in acidi grassi saturi che, unitamente ad un elevato tenore di insaturi, risulta utile nella prevenzione delle malattie cardiovascolari, autoimmuni e infiammatorie.

Da sottolineare l'alto tenore della serie omega 3, costituenti caratteristici degli olii di pesce, che svolgono un certo ruolo sull'esito dei trapianti,

su alcune forme di neoplasie e sullo sviluppo fisico e neuropsichico. La composizione chimica, in particolare il profilo proteico (1), contraddistinto da un rapporto caseine/siero proteine di 0.9-1.1, lo rendono un alimento ipoallergenico (2). Il contenuto di β -lattoglobuline è ridotto, rispetto al latte di vacca, mentre maggiore è la percentuale di α -lattoalbumina e di immunoglobuline.

L'alto contenuto di lattosio, oltre a rendere il latte d'asina molto appetibile, lo rende un eccellente pabulum per la crescita dei batteri lattici ad attività probiotica (3). Il lisozima è presente in quantità particolarmente elevate e la sua attività resta inalterata per periodi estremamente lunghi (4).

In Italia il latte d'asina è usato soprattutto per l'alimentazione della prima infanzia, come sostituto naturale del latte materno, laddove l'allattamento al seno non sia possibile, oppure per rimpiazzare il latte vaccino in pazienti che sono allergici alle proteine vaccine (cows' milk protein allergy "CMPA") (5) e presentano allergie alimentari multiple (6). Studi recenti ne hanno dimostrato l'adeguatezza nutrizionale,

l'eccellente palatabilità e una buona alternativa alle "CMPA" IgE-mediate e non IgE-mediate (7; 8). In virtù di queste caratteristiche del tutto peculiari l'allevamento delle asine per la produzione di latte alimentare ha subito un deciso impulso. Molte aziende, nate con fini diversi, si sono dedicate alla produzione di latte d'asina. La possibilità di vendere latte crudo, data dalla vigente normativa, ha spinto molti produttori ad utilizzare questa tipologia di vendita sia per fini commerciali sia per non modificare le naturali proprietà del prodotto. Nonostante l'Ordinanza del Ministro del Lavoro, della Salute e delle Politiche sociali del 10 dicembre 2008, prorogata fino alla fine del 2011, preveda l'obbligo di indicare sui distributori automatici l'indicazione di bollire il latte crudo, abbiamo ritenuto interessante valutare le caratteristiche microbiologiche del latte crudo d'asina prodotto in un'azienda sperimentale della Regione Campania.

MATERIALI E METODI

Nel periodo compreso tra aprile e novembre del 2010 sono stati prelevati, con cadenza settimanale, campioni individuali di latte da n. 8 animali, 5 di razza Martina Franca e 3 di razza Ragusana. Gli animali erano stati alimentati solo con fieno e avena e presentavano una produzione variabile tra 250 e 1670 ml, con una media di 775 ml.

La mungitura è stata effettuata meccanicamente, utilizzando i seguenti settagli: frequenza 120, rapporto di pulsazione 60/40, vuoto 40 kPa. I soggetti sono stati sgocciolati a mano ed il latte, dopo filtrazione, è stato trasportato in contenitori sterili e in condizione di refrigerazione presso il laboratorio "Teresa Sarli" della Sezione di Ispezione degli alimenti del Dipartimento DISCIZIA.

A causa della diversa fase di lattazione il numero di campioni per ogni animale è risultato differente, come di seguito riportato :

	N° campioni		N° campioni
Animale 1	22	Animale 5	20
Animale 2	19	Animale 6	17
Animale 3	18	Animale 7	16
Animale 4	17	Animale 8	4
Totale 133			

All'arrivo al laboratorio i campioni sono stati immediatamente sottoposti ad analisi microbiologica, ricercando i seguenti parametri con le metodiche di seguito riportate:

- Flora aerobia totale mesofila 30 e 20 °C (ISO 4833:2003);
- Flora aerobia totale psicrofila C (a ISO

7218:2007);

- Enterobatteri totali (ISO 21528-1:2004).
- Inoltre, anche se l'azienda in cui è stata condotta l'indagine è priva dell'autorizzazione per la vendita del latte crudo, sono stati monitorati anche i parametri previsti dall'intesa Stato-Regioni del 25 gennaio 2007 in materia di "vendita diretta di latte crudo per l'alimentazione umana" e in particolare
- *Staphylococcus aureus* (ISO 6888:1 1999)
 - *Listeria monocytogenes* (UNI EN ISO 11290-1:1997)
 - *Salmonella spp.* (UNI EN 12824: 1999)
 - *E. coli O157* (ISO 16654:2001)
 - *Campylobacter spp.* (ISO 10272-1:2006)

Per ogni unità campionaria è stato valutato il pH, tramite l'utilizzo di un pHmetro (Hanna instruments).

I risultati sono stati sottoposti ad analisi della varianza (ANOVA) e le differenze tra le medie sono state valutate mediante GraphPad Prism 5.1.

RISULTATI

Nei campioni analizzati non sono mai stati isolati *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella spp.*, *Escherichia coli O157* e *Campylobacter termotolleranti*. I valori delle medie della flora aerobia totale a 30°, 20° e 5°C e degli enterobatteri totali riscontrati nei campioni dei singoli animali sono riportati, con le relative deviazioni standard, nei grafici 1, 2, 3 e 4.

Grafico 1.

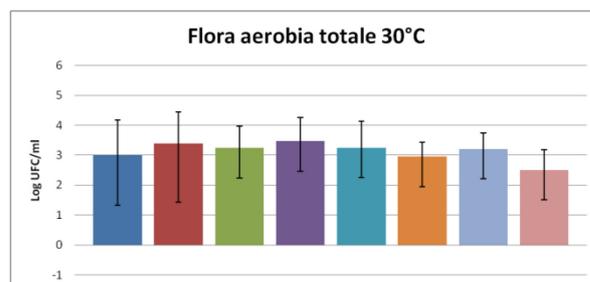


Grafico 2.

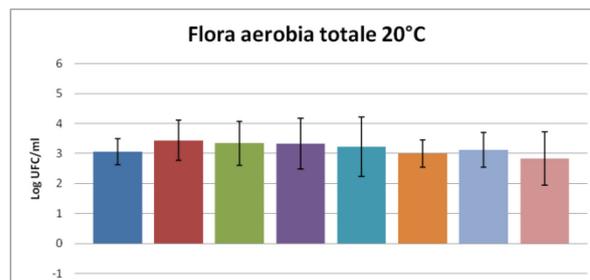
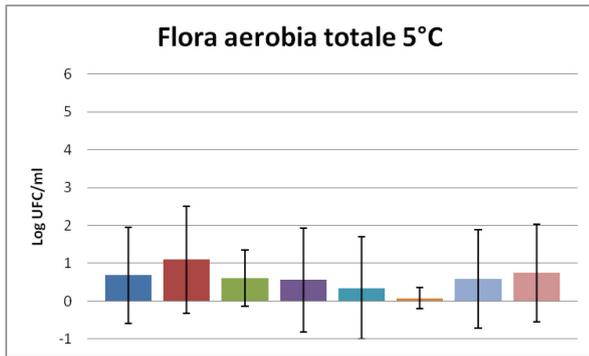
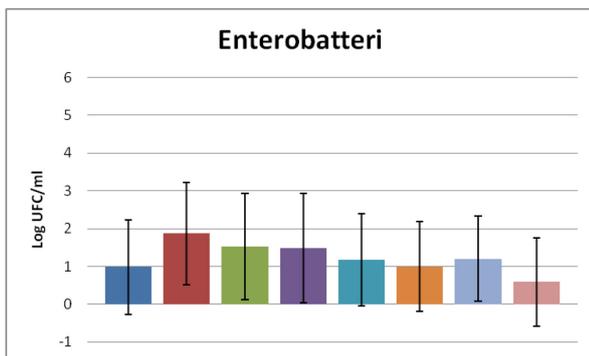
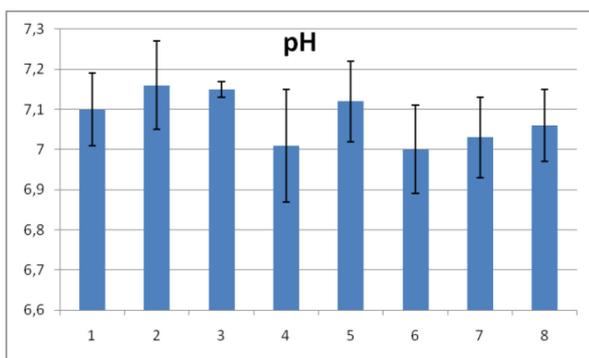


Grafico 3.**Grafico 4.**

I valori medi del pH rilevati negli 8 animali, con la relativa deviazione standard, sono riportati nel grafico 5.

Grafico 5.

I valori della flora aerobia totale 30°C hanno oscillato tra un minimo di 1,73 ad un massimo di 5,58 Log UFC/ml; la flora aerobia totale 20°C da un minimo di 1,64 ed un massimo di 5,5 Log UFC/ml e la flora aerobia totale 5°C da un minimo di 0 e un massimo di 5,2 Log UFC/ml. Il valore degli enterobatteri totali si è attestato tra un minimo di 0 e un massimo di 4,80 Log UFC/ml.

Non sono state evidenziate differenze significative tra i vari animali per quanto riguarda i valori della flora aerobia totale a 30°,20° e 5 °C e per gli enterobatteri ($p < 0,05$). I valori del pH hanno oscillato tra un minimo di 7 e un massimo di 7,16, non evidenziando differenze significative ($p < 0,05$).

CONSIDERAZIONI E CONCLUSIONI

Nei campioni di tutti gli animali controllati il grado di contaminazione è risultato essere sempre contenuto. In un solo campione, infatti, il valore della flora ha superato 100.000 UFC/ml, limite richiesto dal Regolamento 853/2004 per il latte crudo di vacca, e solo in due casi è risultata superiore a 50.000 UFC/ml, valore stabilito da talune regioni italiane per la vendita del latte crudo. I risultati confermano i dati presenti in letteratura, che indicano livelli estremamente bassi per quanto riguarda la contaminazione batterica di questo tipo di latte. Alcuni autori riferiscono di avere riscontrato latte pressoché sterile nella totalità dei campioni analizzati (9), dato che nella presente indagine è stato evidenziato poche volte. In particolare la flora psicrofila e gli enterobatteri sono risultati assenti rispettivamente in 80 e 40 campioni. I valori della flora a 30°C hanno mostrato mediamente livelli in linea con quelli evidenziati in precedenti ricerche che hanno utilizzato lo stesso sistema di mungitura. I bassi livelli di contaminazione sono da ritenersi rapportabili alla naturale presenza di sostanze antimicrobiche e in particolare all'altissima quantità di lisozima (10), presente in elevate quantità nel latte umano quanto quello asinino, a differenza di quello vaccino. Le elevate concentrazioni di lisozima sono ritenute un valido meccanismo di difesa contro le infezioni (11,12) e ciò sarebbe confermato dal fatto che le mastiti sono rare nelle asine, e di solito conseguono ad eventi traumatici (13). Tra il latte dei diversi animali non sono state evidenziate differenze significative per tutti i parametri oggetto dell'indagine. Questo esclude da un lato l'incidenza del periodo di lattazione sulle caratteristiche microbiologiche, dall'altro evidenzia una notevole importanza delle operazioni di mungitura nel determinare il tipo e il grado di contaminazione del latte. I valori di pH riscontrati, sempre al di sopra della neutralità, sono in linea con quanto presente in letteratura(14). In tutti i campioni esaminati non sono stati isolati i batteri patogeni ricercati. Questo conferma la sicurezza sanitaria del latte d'asina che potrebbe essere un alimento sicuro per determinate categorie di individui, se gli animali sono in buona salute e sono munti correttamente, seguendo le procedure igieniche, come raccomandato dal Regolamento 853/2004/CE.

BIBLIOGRAFIA

1. Antuz F.; Vincenzetti S.; Polidori P.; Cammertoni N.; Vita A.; Polidori F.; Mariani P.; (2005) Donkey's milk caseins characteriza-

- tion. *Italian Journal of Animal Science*. 2005; 4 Pages: 427 - 429
2. Lara-Villoslada, F., Olivares, M., & Xaus, J. (2005). The balance between caseins and whey proteins in cow's milk determines its allergenicity. *Journal of Dairy Science*, 88, 1654e1660
 3. Coppola, R., Salimei, E., Succi, M., Sorrentino, E., Nanni, M., & Ranieri, P. (2002). Behaviour of *Lactobacillus rhamnosus* strains in ass's milk. *Annals of Microbiology*, 52, 55–60
 4. Chiavari, C., Coloretti, F., Nanni, M., Sorrentino, E., & Grazia, L. (2005). Use of donkey's milk for a fermented beverage with lactobacilli. *Lait*, 85, 481–490.
 5. A.Muraro, P.Giampietro, E.Galli(2002) Soy formulas and non bovine milks. *Ann Allergy Asthma Immunol* ; 89:97-101 I.F. 2.1
 6. Carroccio A., Cavataio F., Montaldo G., D'Amico D., Alabrese L., Iacono G. (2000) *Clin. Exp. Allergy* 30: 1597–1603.
 7. Monti G, Bertino E, Muratore MC, Coscia A, Cresi F, Silvestro L, Fabris C, Fortunato D, Giuffrida MG, Conti A (2007).Efficacy of donkey's milk in treating highly problematic cow's milk allergic children: an in vivo and in vitro study. *Pediatr Allergy Immunol*. May;18(3):258-64.
 8. Tesse R., Paglialunga C, Braccio S, Armenio L. (2009). Adequacy and tolerance to ass's milk in an Italian cohort of children with cow's milk allergy. *The italian journal of pediatrics*, vol. 35(1); p. 19, ISSN: 1720-8424.
 9. Pilla R., Dapra`V., Zeconi A, Piccinini R.(2010) Hygienic and health characteristics of donkey milk during a follow-up study *Journal of Dairy Research* 77 392–397.
 10. Xiao-Ying Zhang, Liang Zhao, Lu Jiang, Mao-Lin Dong, Fa-Zheng Ren,(2008) The antimicrobial activity of donkey milk and its microflora changes during storage *Food Control*. 19 1191–1197.
 11. Salimei E, Fantuz F, Coppola R, Chiofalo B, Polidori P & Varisco G (2004)Composition and characteristics of ass's milk. *Animal Research* 53 67–78.
 12. Vincenzetti S, Polidori P, Mariani P, Cammertoni N, Fantuz F & Vita A 2008 Donkey's milk protein fractions characterization. *Food Chemistry* 106 640–649.
 13. Conte F, Mazzullo G, Lo Verde V, Monsu` G, Scatassa ML & Macri` D (2003) Mastitis in the ass: description of three cases in Sicily. Qualitative evaluations on the milk, cytology and sanitary consideration *Large Animal Review* 5 63–68.
 14. Chiofalo B, Azzara V, Lotta L and Chiofalo L 2004. I parametri chimico fisici del latte di asina Ragusana nel corso della lattazione. *Proceedings of the 6th Nuove acquisizioni in materia di Ippologia congress*, Campobasso, Italy, pp. 77–84.