



Microbiologia dei salumi tradizionali toscani

Dott.ssa Roberta Nuvoloni

Dip. Patologia animale, Profilassi ed Igiene degli Alimenti - Università di Pisa



Salumi tradizionali toscani

Obiettivi tecnologici e vincoli normativi

- Sicurezza alimentare
- Stabilizzazione conservativa
- Conformità ad eventuali disciplinari
- Ottenimento dei caratteri qualitativi desiderati

Dott.ssa Roberta Nuvoloni- Dip. Patologia animale, Profilassi ed Igiene degli Alimenti –
Università di Pisa

Microbiologia dei salumi

Le masse muscolari di un animale macellato sono praticamente sterili se l'animale non è in batteriemia al momento dell'abbattimento

Le carni hanno un pH poco acido (6,2 – 5, 5)
e una a_w alta ($> 0,980$)

Dott.ssa Roberta Nuvoloni- Dip. Patologia animale, Profilassi ed Igiene degli Alimenti –
Università di Pisa

Microbiologia dei salumi

La microflora delle carni usate come materia prima per la trasformazione è formata da poche specie microbiche dominanti, gli SSO (*specific spoilage organisms*).

Dott.ssa Roberta Nuvoloni- Dip. Patologia animale, Profilassi ed Igiene degli Alimenti –
Università di Pisa

Microbiologia dei salumi

A fine macellazione, prima della refrigerazione, sulla superficiale delle carcasse, la CMT varia da $<10^3$ a $>10^6$ ufc/cm² in base all'igiene della macellazione

Circa il 50% è dato da batteri Gram negativi

L'altro 50% è dato da batteri Gram positivi, muffe e lieviti

Tra i Gram negativi primeggiano le *Enterobacteriaceae*

Solo una limitata % è data da *Pseudomonas*

(da Giaccone, 2010)

Dott.ssa Roberta Nuvoloni- Dip. Patologia animale, Profilassi ed Igiene degli Alimenti –
Università di Pisa

Microbiologia dei salumi

Dopo la macellazione le cariche microbiche aumentano, lentamente ma progressivamente e pochi generi prendono il sopravvento sugli altri

Durante la frollatura in frigorifero ($-1/2^{\circ}\text{C}$) sono favoriti i microrganismi psicrotrofi come le *Pseudomonadaceae*, nettamente psicrotrofe e aerobie

A fine macellazione, *Pseudomonas* 25%,
dopo 7 giorni di frigo *Pseudomonas* 90%

Dott.ssa Roberta Nuvoloni- Dip. Patologia animale, Profilassi ed Igiene degli Alimenti –
Università di Pisa

Microbiologia dei salumi

La microflora dei prodotti di salumeria varia secondo il tipo di processo produttivo

I prodotti di salumeria in generale sono trattati con sale per cui **il fattore conservativo essenziale è rappresentato dal valore di a_w**

Dott.ssa Roberta Nuvoloni- Dip. Patologia animale, Profilassi ed Igiene degli Alimenti –
Università di Pisa

Microbiologia dei salumi

L'azione conservante del sale si esplica secondo due vie di inibizione:

- diminuzione dell'attività dell'acqua
- effetto inibente specifico dello ione Na^+

Vengono inibiti soprattutto i **microrganismi deterioranti** come *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *Enterobacteriaceae*, *Clostridium* e *Bacillus*, mentre microrganismi come *Staphylococcus aureus*, *micrococchi*, batteri alofili e lieviti *alotolleranti* ne risentono meno a seconda della concentrazione salina.

Microbiologia dei salumi

Salumi crudi stagionati a pezzo anatomico intero

Le flore microbiche si concentrano in superficie, mentre le masse muscolari sono praticamente sterili

Le microflоре superficiali sono condizionate dalla flora microbica delle materie prime e dalle flore ambientali arrivate con il processo produttivo

La microflora superficiale è dominata da batteri Gram positivi nonché muffe e lieviti

Dott.ssa Roberta Nuvoloni- Dip. Patologia animale, Profilassi ed Igiene degli Alimenti –
Università di Pisa

Microbiologia dei salumi

Salumi crudi stagionati a pezzo anatomico intero

Il sale e la progressiva asciugatura **sfavoriscono** la proliferazione dei batteri Gram negativi di origine enterica

Tra i patogeni possono sopravvivere:

- *Listeria monocytogenes*
- *Staphylococcus aureus*
- Spore di *Bacillus* e *Clostridium*

Dott.ssa Roberta Nuvoloni- Dip. Patologia animale, Profilassi ed Igiene degli Alimenti –
Università di Pisa

Microbiologia dei salumi

Salumi crudi stagionati a pezzo anatomico intero

ANALISI **MATERIA PRIMA** (COSCE FRESCHE) 2003 – 2005 (Barbuti, 2006)

313 campioni di cosce fresche analizzati,

- 51 sono risultati positivi per *L. monocytogenes* (16,3%)
- 10 sono risultati positivi per *Salmonella spp.* (3,2%).
- 90% *Salmonella* e 54,9% *Listeria* i conteggi sono risultati inferiori al limite analitico (<0,3 MPN/g)
- maggior numero di campioni positivi per *Salmonella* e *Listeria* sono stati registrati nel periodo estivo.

Nei prodotti carnei stagionati il numero di listerie presente è direttamente proporzionale a:

- Qualità della materia prima impiegata
- Caratteristiche fisico-chimiche del prodotto
- Tecnologie di trasformazione

Problemi negli affettati

Microbiologia dei salumi

Salumi crudi stagionati a pezzo anatomico intero

S. aureus è l'unico, tra i potenziali patogeni, in grado di svilupparsi ai valori di a_w dei salumi a fine stagionatura (0,89-0,92)

- La produzione di enterotossine dipende, non solo dal ceppo di *S. aureus* presente nell'alimento, ma anche dalla sua capacità di accrescimento fino a concentrazioni

> **10^5 cellule/g**, condizionata da fattori quali a_w , pH e temperatura.

- Il parametro condizionante la sicurezza igienico sanitaria del prodotto è la **temperatura di conservazione** che, se **inferiore ai 10°C**, impedisce la produzione di enterotossine.

Microbiologia dei salumi

Insaccati

La microflora del budello ricalca quella dei prodotti di salumeria a pezzo intero

La microflora dell'impasto è molto tipica e condiziona la maturazione di un salame

Dopo l'insacco la CBT può essere compresa tra **10^3 e 10^6 ufc/g**, condizionata da **qualità delle materie prime e igiene lavorazione**

Microbiologia dei salumi

Insaccati

La microflora di un insaccato inizialmente è data da:

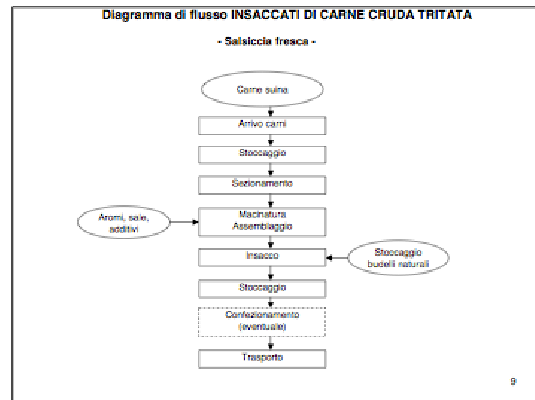
- Batteri lattici
- Muffe e lieviti
- Enterobatteri e *Pseudomonas*

Tra i patogeni possono essere presenti:

- *Salmonella* spp.
- *L. monocytogenes*
- *E.coli* VTEC
- *S.aureus*
- *Clostridium* patogeni

Salumi tradizionali toscani

Salsiccia toscana



Salumi tradizionali toscani

Salsiccia



Scarsi dati in letteratura su profilo igienico salsiccia fresca toscana

- Analisi del rischio salmonella e *L. monocytogenes* in insaccati di suino (IZS delle Venezie) →

Salmonella: 11,4% (315 + su 563 esaminati)

L. monocytogenes: 40,25% positività (126 + su 313 esaminati)

Microbiologia dei salumi

Listeria monocytogenes

Sono batteri Gram positivi, mobili, non sporigeni e nettamente **psicrotrofi**: in condizioni di laboratorio, duplicano tra -1° e 50°C e in intervalli di pH compresi tra 4,0 e 9,5.

Tra i batteri patogeni non sporigeni sono quelli più **termoresistenti**: occorrono almeno 15'' a 72°C per inattivarli;

Sono **alotolleranti** e riescono a moltiplicare fino a concentrazioni di sale di 8-10% (a_w minima di crescita: 0,90-0,88).

Dott.ssa Roberta Nuvoloni- Dip. Patologia animale, Profilassi ed Igiene degli Alimenti – Università di Pisa

Salumi tradizionali toscani

Dati su salsiccia toscana

(Nuvoloni et al. in press)



- n. 3 lotti di salsicce (35 salsicce ciascuno) preparate in un laboratorio di macelleria di un supermercato di Pisa
- conservate in frigorifero a circa 4°C simulando le condizioni di conservazione nel banco frigorifero dell'esercizio di vendita.
- Le analisi sono state effettuate a 0, 1, 2, 3, 6, 7, 8, 9 giorni di conservazione.

Dott.ssa Roberta Nuvoloni- Dip. Patologia animale, Profilassi ed Igiene degli Alimenti – Università di Pisa

Salumi tradizionali toscani

Salsiccia toscana

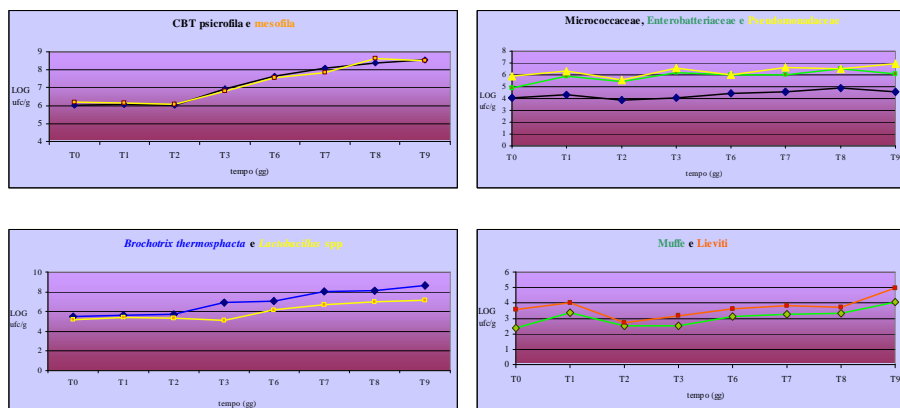


- Assenza di *Listeria monocytogenes* in tutti i campioni
- Presenza di *Salmonella enterica* nel campione T0 del 3° lotto
- *E.coli* e stafilococchi coagulasi + sempre sotto la soglia di determinazione
- Alte contaminazioni iniziali del prodotto

Dott.ssa Roberta Nuvoloni- Dip. Patologia animale, Profilassi ed Igiene degli Alimenti –
Università di Pisa

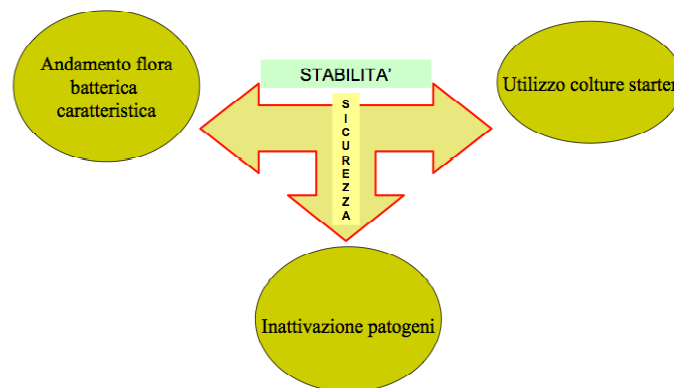
Salumi tradizionali toscani

Salsiccia toscana



Microbiologia dei salumi

Insaccati fermentati/stagionati



Dott.ssa Roberta Nuvoloni- Dip. Patologia animale, Profilassi ed Igiene degli Alimenti –
Università di Pisa

Microbiologia dei salumi

Insaccati fermentati/stagionati

Stabilità:

- **Microrganismi tipici**

- ❖ Batteri di fermentazione
- ❖ Microrganismi presenti nei prodotti stagionati

- **Microrganismi di alterazione**

- ❖ Difetti di putrefazione/alterazione caratteri organolettici
- ❖ Accrescimenti anomali

Microbiologia dei salumi

Insaccati fermentati/stagionati

Sicurezza :

- Microrganismi patogeni
 - ❖ Incidenza e livello nei prodotti carnei
 - ❖ Identificazione e caratterizzazione degli isolati
 - ❖ Validazione dei processi produttivi
 - ❖ Valutazione di sostanze ad azione “anti-patogeni”

(da Barbuti, 2006)

Microbiologia dei salumi

Salami a lenta acidificazione o a lunga stagionatura

- La variazione di pH è limitata e dopo aver raggiunto il minimo a 5,0-5,3 attorno alla 2°-3° settimana, risale durante la stagionatura.
- Micrococchi e lattobacilli sono i generi microbici principali. I primi divengono la popolazione dominante già dai primi giorni.
- I lattobacilli si moltiplicano più lentamente e il loro numero resta più o meno costante fino a fine stagionatura.

Microbiologia dei salumi

Salami a rapida acidificazione

In questi salami si ha una prima fase di fermentazione, nella quale i lattobacilli divengono rapidamente la flora dominante e acidificano l'impasto, inibendo i patogeni e gli alteranti.

La velocità di diminuzione del pH e il valore a fine stagionatura sono le caratteristiche principali di questi prodotti.

Microbiologia dei salumi

Sviluppo microbico nei salami

Le condizioni che si vengono a creare nell'impasto dopo l'insacco, dovute alla presenza di sale, nitrati, nitriti, zuccheri, alla temperatura di esposizione e allo stato di anaerobiosi, sono tali da inibire lo sviluppo della maggior parte dei microrganismi

I primi batteri che si moltiplicano sono i **micrococchi**, il cui sviluppo si ferma quando termina l'ossigeno.

Seguono poi gli **stafilococchi**, i **lattici** e i **pediococchi**

Microbiologia dei salumi

Sviluppo microbico nei salami

Fermentazione

1° FASE

modificazione popolazione batterica:

MICROCOCCACEAE

- consumo di ossigeno
- riduzione dei nitrati
- lipolisi
- Eliminazione di acqua ossigenata prodotta da altri batteri

Dott.ssa Roberta Nuvoloni- Dip. Patologia animale, Profilassi ed Igiene degli Alimenti –
Università di Pisa

Microbiologia dei salumi

Sviluppo microbico nei salami

S. xylosus seguita da *S. carnosus*, *S. simulans*, *S. saprophyticus*, *S. capitis* e *S. equorum*.

***S. aureus* può svilupparsi nell'impasto dei salami:** ha un buon grado di alofilia, è aerobio/anaerobio facoltativo, sviluppa bene tra i 15 e i 20°C ed è sempre presente nelle materie prime e sull'uomo.

Il numero di cellule presenti dopo l'insacco varia notevolmente, ma generalmente è intorno a 10^3 /g (1.000/g).

***S. aureus* è ostacolato da bassi valori di pH.**

Microbiologia dei salumi

Sviluppo microbico nei salami

Fermentazione

2° FASE

modificazione popolazione batterica:

LATTOBACILLI

- Riducono il nitrito a ossido d'azoto (colore).
- Sono gli agenti delle fermentazioni lattiche degli zuccheri e sono fortemente acidogeni. La conseguenza di questo sviluppo è l'esaurimento degli zuccheri e l'abbassamento del pH. L'abbassamento del pH determina la coagulazione proteica, il contributo positivo alla formazione del colore e la stabilità microbiologica del prodotto

Dott.ssa Roberta Nuvoloni- Dip. Patologia animale, Profilassi ed Igiene degli Alimenti – Università di Pisa

Microbiologia dei salumi

Sviluppo microbico nei salami

Fermentazione

2° FASE

modificazione popolazione batterica:

LATTOBACILLI

- Producono batteriocine attive soprattutto verso *S. aureus*.
- Eventuale attività proteolitica e lipolitica sia endo che eso cellulare.

Dott.ssa Roberta Nuvoloni- Dip. Patologia animale, Profilassi ed Igiene degli Alimenti – Università di Pisa

Microbiologia dei salumi

Sviluppo microbico nei salami

Fermentazione

3° FASE

MUFFE

- Permettono un asciugamento più uniforme del prodotto,
- Riducono il calo in peso di circa il 7%,
- Facilitano la “sbucciatura” della pelle del salame,
- Disacidificano il salame consumando l'ac. lattico e portano il pH a 6 (fine stagionatura)
- Impediscono l'ossidazione dei grassi,
- Hanno azione lipolitica e proteolitica,
- Migliorano le caratteristiche organolettiche

Microbiologia dei salumi

Sviluppo microbico nei salami

Se i lattici sono scarsi:

- si può sviluppare *S. aureus*,
- possono prendere il sopravvento i lattici eterofermentanti che producono anidride carbonica (gonfiore, presenza di piccole cavità) e acido acetico (gusto non gradevole).

La mancanza del rispetto delle norme igieniche porta a sviluppo eccessivo di coliformi o di streptococchi fecali (alterazioni del gusto e del profumo).

Microbiologia dei salumi

Fermentazioni guidate

Il batterio lattico più idoneo è *Lactobacillus plantarum* (altri: *L. sake*, *L. alimentarius*):

- alotollerante, resiste ai nitriti, sviluppa anche a meno di 20°, omofermentante, inibisce *S. aureus*.
- presente nelle fermentazioni naturali.

Anche i pediococchi (*P. acidilactici* e *P. pentosaceus*)

Sono aggiunti all'impasto in modo da realizzare una concentrazione microbica di almeno un milione di cellule per grammo.

Dott.ssa Roberta Nuvoloni- Dip. Patologia animale, Profilassi ed Igiene degli Alimenti –
Università di Pisa

Microbiologia dei salumi

Fermentazioni guidate

Le colture starter devono avere queste caratteristiche:

- alotolleranza;
- capacità di crescita in presenza di 80-100 ppm. di nitrito;
- crescita a temperature comprese tra i 12 e 30 °C;
- omofermentatività (anche facoltativa);
- capacità proteolitica e lipolitica o non a seconda dell'uso;
- non devono produrre sapori anomali;
- capacità di ridurre i nitrati.

Dott.ssa Roberta Nuvoloni- Dip. Patologia animale, Profilassi ed Igiene degli Alimenti – Università di Pisa

Microbiologia dei salumi

Muffe selezionate

Le muffe starter devono avere queste caratteristiche:

- Sviluppare agevolmente sugli insaccati,
- Non produrre tossine,
- Avere micelio bianco o bianco-grigio,
- Avere attività proteolitica e lipolitica.

Dott.ssa Roberta Nuvoloni - Dip. Patologia animale, Profilassi ed Igiene degli Alimenti – Università di Pisa

Microbiologia dei salumi

Sicurezza dei salami

“ ... Prodotti con $\text{pH} \leq 4,4$ o con $a^w \leq 0,92$, prodotti con $\text{pH} \leq 5,0$ e $a^w \leq 0,94$, prodotti con *shelf-life* inferiore ai 5 giorni sono considerati **prodotti in cui non è possibile** l'accrescimento di *Listeria monocytogenes*
pertanto in essi sarà consentita la presenza di *L. monocytogenes* a valori $\leq 100 \text{ ufc/g}$ ”

Dott.ssa Roberta Nuvoloni - Dip. Patologia animale, Profilassi ed Igiene degli Alimenti – Università di Pisa

Microbiologia dei salumi

Sicurezza dei salami

I prodotti di carne crudi stagionati non sempre riescono, sulla base dei parametri chimico-fisici, a rientrare in questo gruppo.....

l'unica possibilità è di dimostrare, **con studi scientifici appropriati**, che nelle condizioni di commercializzazione non ci possa essere accrescimento di *Listeria*.

Dott.ssa Roberta Nuvoloni- Dip. Patologia animale, Profilassi ed Igiene degli Alimenti – Università di Pisa

Microbiologia dei salumi

- Il panorama dei prodotti tipici italiani, in particolare per quanto riguarda i prodotti a base di carne è costituito da una vastissima varietà di prodotti differenti.
- L'utilizzazione di dati derivanti dalla consultazione della bibliografia internazionale è una soluzione poco utilizzabile dai produttori di salumi tradizionali data la grande differenza delle caratteristiche dei prodotti italiani fermentati rispetto a quelli esteri.
- Anche per gli eventuali articoli derivanti da prove fatte da vari Istituti in Italia si pone il problema di poter estendere i risultati di tali studi sperimentali a prodotti tipici di regioni diverse e quindi nominalmente diversi tra loro pur se con caratteristiche organolettiche simili .

Dott.ssa Roberta Nuvoloni- Dip. Patologia animale, Profilassi ed Igiene degli Alimenti – Università di Pisa

Microbiologia dei salumi

Salumi tradizionali

- Necessità di conoscere precisamente il processo produttivo del singolo prodotto
- Necessità di studi specifici sui singoli prodotti (es. *microbial challenge test*, impiego di modelli predittivi ... ecc)

Dott.ssa Roberta Nuvoloni- Dip. Patologia animale, Profilassi ed Igiene degli Alimenti – Università di Pisa

.....*grazie per l'attenzione!*

Dott.ssa Roberta Nuvoloni
Dip. Patologia animale, Profilassi ed Igiene degli Alimenti - Università di Pisa