

## **Note sperimentali sul cosiddetto latte «O»**

**Dott. Elisa Corberi**

*Assistente*

Durante la guerra si fece in Milano un esperimento di bonifica del latte con un metodo del tutto nuovo o per lo meno non mai usato con qualche larghezza fino ad allora, sia all'estero che in Italia. Ci riferiamo al così detto latte «O» la cui produzione e vendita in via provvisoria erano state autorizzate con Decreto Prefettizio del 30 maggio 1941 in vista delle sue buone qualità risultanti da numerose esperienze e dal giudizio di competenti. Il nostro laboratorio se ne interessò subito e nel corso del 1941-1942 ebbe la possibilità di esaminare un numero non indifferente di campioni di latte trattato con quel metodo: solo ora si ha l'occasione di renderne pubblici i risultati. Il metodo era stato ideato originariamente dal Hofius (1928), più tardi modificato dal Richter (1936) ed applicato in Milano secondo uno speciale brevetto Crespi. L'Hofius si serviva della ossigenazione cui poi il Richter aggiunse l'azione della temperatura (55°); il Crespi predispose un'apparecchiatura capace di sopportare alte pressioni, riscaldabile al grado voluto e munita di un agitatore che ovviasse ad alcuni inconvenienti che si verificavano nelle operazioni compiute con altri apparecchi. Non risulta dalla letteratura a nostra disposizione che nè il metodo dell'Hofius nè quello del Richter avessero potuto ottenere un'applicazione pratica estesa fuori dei laboratori in cui erano studiati, come toccò invece al metodo nella particolare forma in cui lo sistemò il Crespi. Col dispositivo Crespi tutta l'operazione si svolgeva negli apparecchi e con le fasi qui sotto rapidamente indicate. L'essenziale dal punto di vista tecnico è rappresentato dal recipiente Crespi, recipiente metallico capace di resistere a 10 atmosfere, a doppia parete, con superficie interna smaltata e munito di un diaframma forato girevole. Il recipiente è cilindrico, di vario volume, costituito da due metà combacianti a perfetta tenuta con viti di chiusura adatte; dispone di un foro per il carico del latte, un foro per il carico e lo scarico dell'ossigeno; un altro per il termometro; un ultimo ancora per il manometro. La camicia ha i suoi raccordi per la circolazione di acqua calda e fredda. Il recipiente viene montato su un cavalletto in modo da poter essere fatto ruotare intorno all'asse trasversale. Furono poi preparati degli altri recipienti speciali in cui collocare e trasportare il latte sotto pressione fino ai luoghi di consumo. Il latte proveniente dal centro di raccolta viene travasato con le usuali cautele nel recipiente Crespi fino a 4/5 della sua capacità: successivamente si porta la temperatura a 55° ed a questo punto si introduce ossigeno fino a 10 atmosfere.

Questo ossigeno viene, dopo alcuni giri fatti compiere al recipiente, allontanato attraverso l'apposita apertura; l'ossigeno naturalmente trascina con

sè l'aria contenuta nell'interno e quella mescolata al latte. Allora di nuovo si passa al riempimento con ossigeno e la pressione deve risalire a 10 atmosfere. L'operazione da tale momento si protrae per 5 ore: cioè il latte resta per 5 ore sotto pressione di 10 atmosfere ed a 55°. Infine si passa al raffreddamento, all'imbottigliamento ed al consumo.

Come abbiamo detto l'interesse per il nuovo metodo, che aveva già fornito latte agli ospedali dall'aprile 1940, era per noi assai vivo. Teoricamente il metodo doveva essere considerato una combinazione dell'azione del calore ormai consacrata da quasi un secolo di esperienza (pastorizzazione), con una particolare azione dell'ossigeno. Il metodo avrebbe dovuto collocarsi in serie con quelli abituali, pastorizzazione e stassanizzazione, ed in condizioni adatte al suo impiego, essere preferito soprattutto dal punto di vista della conservazione di tutti gli elementi utili per l'alimentazione e per la notevole durata di tale conservazione. In ogni modo i pregi che i produttori del latte « O » gli attribuivano erano i seguenti:

- 1) scomparsa dei microrganismi patogeni (tubercolosi ecc.);
- 2) assenza dei batteri del gruppo coli-aërogenes anche ricercati in 25-50 cc. di latte;
- 3) carica batterica minore di circa 1-2.000 germi in confronto del latte pastorizzato;
- 4) maggiore grado di conservabilità rispetto al pastorizzato stesso, a parità di condizioni cioè ritardo della coagulazione e degli altri processi di alterazione (conservazione perfetta per un mese se tenuto sotto pressione a temperatura ambiente);
- 5) maggiore durata dell'attività delle vitamine;
- 6) miglioramenti organolettici (scomparsa dell'odore di stalla del latte appena munto e dell'odore di cotto particolare del pastorizzato).

Data la nostra attrezzatura stabilimmo di ricercare nei campioni di latte « O »:

- 1) la carica batterica generale;
- 2) il gruppo del coli-aërogenes;
- 3) conservazione ed acidificazione a temperatura ambiente e di refrigerante.

Per avere i dati di confronto necessari parallelamente abbiamo disposto che le stesse prove venissero eseguite sul latte pastorizzato e su quello igienicamente raccolto ed autorizzato per consumarsi « crudo » in condizioni idonee. Bisognava perciò per ragioni ovvie, procurare i tre tipi di latte con etichette di scadenza identiche, ciò che fu possibile solo per breve tempo perchè il crudo scomparve dal mercato o per lo meno si ridusse enormemente per quantità e regolarità. Il latte in bottiglie da mezzo litro veniva acquistato in latterie site nelle vicinanze del nostro Istituto. Nel 1942 si poté per il pastorizzato e per l' « O » avere una migliore organizzazione di fornitura, ma neppure allora avemmo la fortuna di seguire il latte « O » in tutte le stagioni, come era nei nostri propositi.

Il prelevamento dei campioni che dovevano servire per la carica batterica ed il pH si effettuava appena le bottiglie erano giunte in laboratorio previa accurata agitazione; il latte restante in ciascuna bottiglia veniva versato in altre due sterili, una delle quali era mantenuta all'ambiente e l'altra posta in refrigerante. Il refrigerante era discretamente sensibile alla temperatura esterna; in primavera ed autunno oscillava tra 4-7°, ed in piena estate non si riusciva a mantenerlo ad una temperatura inferiore ai 9-13°.

1) - Carica batterica. La carica batterica fu ricercata con il metodo delle piastre all'agar comune (al brodo di carne), che si allestivano a diverse diluizioni a seconda di come si supponeva fosse il tenore in germi del campione in esame. Le piastre venivano incubate a 37° e le colonie sviluppatasi si contavano in genere dopo non meno di 5 giorni di termostato. Inoltre per ciascun campione si allestiva un saggio lattozimoscopico: 1 cc. di latte e sue diluizioni successive venivano seminate in altrettante provette di latte sterile ed incubate a 37°. Dalla forma del coagulo ottenuto si aveva un indizio della flora lattica prevalente. Contemporaneamente si ricercavano anche i microrganismi sporigeni gassogeni seminando come sopra in provette contenenti anche paraffina che venivano pastorizzate per 10' a 80°; se dopo qualche giorno di termostato a 37° il tappo di paraffina risultava spinto in alto ed il coagulo era spugnoso, si concludeva affermativamente per la presenza di questi microrganismi. Quest'ultima ricerca (sporigeni gassogeni) fu compiuta solo per la prima serie di analisi (1941) perchè essendo risultata sempre negativa per tutti i tipi di latte, giudicammo inutile continuarla.

2) - Batteri del gruppo del *coli-aërogenes*. Nella prima serie (1941) si usò il brodo al verde malachite di Zavagli, nella seconda (1942) il brodo lattosato al rosso fenolo di Neri; le diluizioni variarono a seconda del campione e della stagione.

3) - Conservazione a temperatura ambiente e di refrigerante. Dopo 3 giorni si eseguiva il secondo prelievo da ciascun campione tenuto alle due diverse temperature e si ricercavano sia la carica batterica che il gruppo del *coli-aërogenes*, sempre con i metodi sopra indicati.

4) pH. La determinazione veniva eseguita con il metodo potenziometrico sia immediatamente che dopo 3, 5, 7, 11, 15, 21 giorni per ciascun campione. I risultati sono riassunti nelle tabelle I e II seguenti.

a) *Carica batterica*. Dalle 10 analisi di confronto tra latte « O » e « crudo » (1941) risulta per il latte esaminato subito all'arrivo che il primo ha tendenza a raggiungere cifre un po' superiori al secondo, pure mostrando i due tipi di latte una carica batterica bassa vicina a quella normale del latte pastorizzato, cioè poche migliaia di germi per cc. Dopo due giorni di permanenza sia all'ambiente che in refrigerante, il risultato sembra simile, cioè l'« O » ha nella maggioranza delle analisi un numero di batteri un poco superiore a quello che risulta nel « crudo ». È però piccolo il numero delle analisi eseguite ed inoltre comprende una sola stagione, l'estiva, per cui non possiamo trarre nessuna conclusione precisa; parrebbe forse che se pure il latte « O » all'origine ha carica batterica più o meno simile a quella del « crudo », a parità di condizioni si conservi un po' meno bene di questo. Le analisi di confronto tra latte « O » e « pastorizzato » (1942) invece sono più numerose (45) ed abbracciano un periodo più lungo: primavera estate ed au-

tunno. Notiamo subito, come era da aspettarsi il graduale aumento della carica batterica per tutti i campioni a seconda che la stagione diviene più calda. Nelle analisi eseguite subito all'arrivo i due tipi danno risultati piuttosto simili; infatti l'« O » ha carica batterica superiore al « pastorizzato » solo in 21 casi, circa la metà; in quelle eseguite dopo 3 giorni di ambiente l'« O » invece è più ricco di microrganismi in 30, ed infine in quelle eseguite dopo 3 giorni di refrigerante in 29; in tutte le altre è simile al « pastorizzato ». Dunque se all'origine i due tipi più o meno si equivalgono, la conservabilità è senz'altro minore per l'« O » sia all'ambiente che in refrigerante.

b) Batteri del gruppo del *coli-aërogenes*. Notiamo subito che questi germi sono molto frequenti in tutte e tre i tipi. Nelle 10 analisi di confronto tra « O » e « crudo » (1941) in quelli esaminati subito dopo all'arrivo esso è più frequente nel primo che nel secondo così pure nelle altre di confronto tra « O » e « pastorizzato » (1942); in queste ultime, su 45 campioni, è presente in 43 di « O » di contro a 29 di « pastorizzato ». Nei campioni conservati all'ambiente ed in quelli in refrigerante, esso è sempre presente in tutti, nessuno escluso anche in diluizioni discretamente elevate. Nel complesso sia il latte « crudo » che il « pastorizzato » sono risultati più poveri di coli dell'« O ».

c) *Fermenti lattici, sporigeni, gassogeni, muffe*. Non vi furono differenze sensibili nei 3 tipi per la forma del coagulo che nella maggior parte dei casi si presentava compatto con qualche piccola spaccatura, forse più abbondante in quelli conservati all'ambiente. Osservammo invece con quanta frequenza nelle provette insemminate con il latte « O » si sviluppavano sulla superficie del coagulo delle muffe che poi lo invadevano del tutto. Nel latte esaminato subito all'arrivo trovammo le muffe in 39 campioni di latte « O » di contro ad uno solo di « pastorizzato »; in quello all'ambiente in 10 campioni di « O » di contro ad 1 di « pastorizzato » ed infine in quello esaminato dopo 3 giorni di refrigerante in 17 campioni di « O » di contro sempre ad 1 solo di « pastorizzato ». La ricerca degli sporigeni gassogeni essendo rimasta sempre negativa per tutti i campioni fu sospesa dopo un certo numero di analisi.

d) *pH*. L'acidificazione del latte « O » avviene un po' più rapidamente rispetto al « pastorizzato » e sembra anche rispetto al « crudo » se pure di poco. L'acidificazione di tutti e tre i tipi di latte è naturalmente più rapida all'ambiente che in refrigerante. Osserviamo dapprima il pH del latte « O » in parallelo con quello « crudo » (1941); abbiamo solo pochi dati in proposito, quelli risultanti dalle 3 analisi del mese di novembre, nelle quali il pH fu seguito quasi giornalmente e da cui si rileva come la coagulazione all'ambiente (19-22°) avvenga quasi contemporaneamente entro 2-3 giorni per entrambi con un anticipo di poche ore per l'« O »; in refrigerante (4-7°) entro 12-15 giorni per l'« O » e 2 o 3 giorni più tardi per il « crudo »; in complesso parrebbe che avvenga una acidificazione più rapida nell'« O » che nel « crudo » sia all'ambiente che in refrigerante, ma i dati sono pochi e non possiamo accettarli come definitivi. Del latte « O » in confronto con il latte « pastorizzato » (1942) abbiamo invece i dati di tutti i campioni in cui è stata fatta la ricerca della carica batterica (45). Ecco alcuni esempi tipici di acidificazione di latte « O » e di « pastorizzato » nei diversi mesi (v. tabella III).

TABELLA III

	13 maggio		22 luglio		19 agosto		14 ottobre	
Subito . . . . .	Past.	« O »	Past.	« O »	Past.	« O »	Past.	« O »
	6,8	6,8	6,9	6,9	6,7	6,65	6,65	6,6
	Amb. Refr.	Amb. Refr.	Amb. Refr.	Amb. Refr.	Amb. Refr.	Amb. Refr.	Amb. Refr.	Amb. Refr.
Dopo 3 giorni . . . . .	5,5	4,45* 6,8	4,6*	6,95	4,35* 6,7	4,45* 6,6	4,35* 6,65	5,5
» 5 » . . . . .	4,65*	6,8	4,3	6,55	4,35	6,25	4,45* 5,7	4,25* 6,65
» 7 » . . . . .	4,65	6,8	4,2	6,8	4,3	4,85*	4,45	5,3
» 11 » . . . . .	4,6	6,6	4,25	5,55	4,2	4,75*	4,2	4,5
» 15 » . . . . .	4,65	5,0*	4,25	4,9*	3,9	4,7	4,19	4,5
» 21 » . . . . .	4,65	4,9	4,1	4,8	3,9	4,7	4,11	4,18
					3,8	4,6	3,8	4,45
					3,8	4,6	3,8	4,45

\* il latte era coagulato.

Si rileva dunque che nei mesi primaverili ed autunnali la coagulazione del latte « O » all'ambiente (10-18° circa) avviene entro 3 giorni, mentre quella del latte « pastorizzato » entro 5; in refrigerante (4-7°) entro 12-15 giorni mentre quella del latte « pastorizzato » entro 15-20 giorni; nei mesi estivi (22-32° circa) la coagulazione del latte « O » e del « pastorizzato » all'ambiente sono molto vicine, entro 48-72 ore, per quanto l'acidificazione sia un po' più accentuata nel primo che nel secondo caso; in refrigerante (9-13°) il latte « O » entro 7 giorni, mentre il « pastorizzato » in H giorni. Ci mancano i dati invernali per avere il quadro completo; quelli che abbiamo risultanti da 7 mesi di analisi, ci dicono che la acidificazione è costantemente più rapida per l'« O » che per il « pastorizzato ». Probabilmente non siamo molto lontani dal vero dicendo che anche d'inverno succede la medesima cosa se pensiamo che le temperature di 4-7° e 9-13° sperimentate come quelle di refrigerante durante la primavera e l'estate, corrispondono a quelle dell'inverno.

### CONCLUSIONI

La carica batterica del latte « O » non risulta quindi di 1-2 mila germi minore di quella del latte « pastorizzato ». È da notare che quest'ultimo soprattutto nei mesi caldi ha dimostrato di avere un numero di germi notevolmente superiore a quello che si era soliti riscontrare in passato. Cercando una giustificazione ai nostri reperti pensiamo ne sia causa il rilassamento di tutte quelle buone norme igieniche che una volta venivano eseguite metodicamente e che in quel momento particolare venivano un poco trascurate come pre-refrigerazione, trasporto rapido, controllo della filtrazione, ecc. Per ciò il latte arrivava alla « pastorizzazione » già notevolmente più sporco che in passato ed il numero dei germi che vi restava anche dopo era di conseguenza più elevato. Infatti secondo il Renco la carica batterica del latte appena pastorizzato può essere molto varia perchè dipende dalla quantità e dalla qualità dei microbi presenti prima della pastorizzazione; tanto che in alcuni paesi (U.S.A. ed Inghilterra) un regolamento stabilisce quale deve essere il numero dei microbi presenti non solo dopo la « pastorizzazione » ma anche prima di essa. A tutte queste cause si può forse anche aggiungere che la stessa esecuzione della pastorizzazione e dell'imbottigliamento non potevano essere, in quel periodo, compiute con l'accuratezza dell'ante-guerra. Per cui se nelle analisi eseguite subito all'arrivo il numero di germi del latte « O » e del « pastorizzato » sono risultati circa pari è necessario tener presente che il « pastorizzato » aveva certamente una carica batterica ed una percentuale di *coli-aërogenes* più elevata del normale. Ne consegue che la parità tra i due tipi è fittizia, tanto più che per il « pastorizzato » si possono capire le cause del peggioramento, ma le stesse non dovrebbero aver valore per l'« O » ottenuto con un metodo studiato proprio per la purificazione e conservazione di latte ricco di germi ed eseguito in un impianto modello, su piccole partite con tutti gli accorgimenti tecnici del caso.

Di più il latte « O » nelle analisi eseguite dopo la permanenza all'ambiente ed in refrigerante, ha dimostrato di avere una carica batterica superiore a quella del « pastorizzato » nelle medesime condizioni, perciò si conserva

senz'altro. meno bene di questo. Il gruppo del *coli-aërogenes* è molto più abbondante nell'« O » che negli altri due; inoltre quest'ultimo diviene più facilmente preda di muffe. Anche riguardo all'acidificazione infine, sia a temperatura ambiente che in refrigerante, si osserva a carico dell'« O » una comparsa sensibilmente più precoce, e quindi una conservazione minore. Pertanto in base a quello che più sopra è stato riferito non abbiamo potuto riconoscere al latte « O » quelle prerogative che gli erano state attribuite e che erano implicitamente ammesse nella sua maggiorazione di prezzo rispetto al « pastorizzato ».

Come si vede i risultati esposti sono alquanto lontani da quelli che si sarebbero dovuti attendere. Tra i ricercatori che fin al presente hanno reso noto l'esito delle loro prove, il Ragazzi per quanto abbia avuto risultati incoraggianti conclude con molta prudenza consigliando il metodo solo in casi speciali e soprattutto per rifornire centri lontani dai luoghi di produzione. Le osservazioni del Petrini e dell'Attili sono sostanzialmente concordanti con le nostre.

#### RIASSUNTO

Si riferiscono i risultati di ricerche compiute sulla carica batterica, sui germi del gruppo del *coli-aërogenes* e sulla conservabilità a temperatura ambiente e di refrigerante del cosiddetto latte « O », latte trattato per 5 ore a 55° con ossigeno sotto pressione. La carica batterica è apparsa in complesso più alta, il gruppo *coli-aërogenes* decisamente più abbondante, l'acidità più precoce in confronto al latte « pastorizzato ».

#### SUMMARY

A report is given on the results of research carried out on the percentage of bacteria, on the *coli-aërogenes* group and on the preservation (both at normal room temperature and at refrigerator) of milk « O » (treated with oxygen under pressure). The bacteria percentage appeared higher, the *coli-aërogenes* group more abundant and the souring more rapid in comparison with pasteurised milk.

#### BIBLIOGRAFIA

- C. Arnaudi: «Elementi di Microbiologia generale ed applicata alle fermentazioni. » - C.E.A., 1948.
- P. Renco: « Microbiologia del latte e dei latticini », Hoepli, 1939.
- G. A.: « Latte "O" » - « Annali d'igiene », 1942, pag. 29.
- A. Ragazzi: « Il latte "O" » - « Riv. It. d'Ig. », maggio 1942, n. 5.
- M. Petrini e L. Attili: « Ricerche sui nuovi metodi di bonifica del latte vaccino (latte "O" e latte trattato con H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> a 130 v.). » « Boll. I. S. M. », vol. XXIV gennaio-giugno 1945.

*Pervenuto in redazione il 5 luglio 1948.*