

## Ricerca condotta dalla Mendel University in Brno (Rep. Ceca)

### Stabilità microbiologica di diversi prodotti a base di Aloe.

#### 1. Analisi microbiologica dei prodotti fatti con Aloe in 47 giorni

##### Metodologia

Tre diversi campioni di prodotti terapeutici sono stati utilizzati per l'analisi microbiologica. La prova veniva tenuta a giorni alterni (lunedì, mercoledì e venerdì) fino al 26° giorno di incubazione e ogni 5 giorni fino al 47° giorno di incubazione.

Due diverse temperature sono state usate per l'incubazione:

- a) 6°c per rappresentare la temperatura in un frigorifero
- b) 25°c per rappresentare la temperatura ambiente.
- c)

Si sono quindi formate 6 tipologie di campioni:

1. campione 350 gr Aloe, 500 gr miele, 50 ml alcool incub. 6°c
2. campione 350 gr Aloe, 500 gr miele, 50 ml alcool incub. 25°c
3. campione 350 gr Aloe, 250 gr miele, 50 ml alcool incub. 6°c
4. campione 350 gr Aloe, 250 gr miele, 50 ml alcool incub. 25°c
5. campione 350 gr Aloe, 500 gr miele, senza alcool incub. 6°c
6. campione 350 gr Aloe, 500 gr miele, senza alcool incub. 25°c

#### 1.1 Gruppi di microorganismi analizzati

##### . CTM Conta totale microorganismi

Questo gruppo è valutato su un terreno Agar non selettivo, esprime potenzialmente tutti i microorganismi esistenti nel substrato.

Sono microorganismi aerobici o anaerobici facoltativi cresciuti in 3 giorni a 30°c.

L'analisi non mostra la conta dei batteri termofili (che richiedono 40°c), dei microorganismi psicotropici (che richiedono 6°c) e dei batteri anaerobici (che necessitano un ambiente del tutto privo di ossigeno)

La CTM fornisce un'informazione di base sul grado di contaminazione microbica e ricontaminazione.

I risultati ottenuti possono suggerire le tecnologie da impiegare e le norme igieniche da osservare durante la produzione, la manipolazione e la conservazione.

#### . BAL Batteri Acido Lattico

Sono coltivati su terreni MRS per 3 giorni a 30°C.

Sono principalmente batteri del genere *Lattobacillo*, *Lattococco*, *Streptococco*, *Pediococco*, ecc.

Possono fermentare saccaridi in acido lattico, etanolo, CO<sub>2</sub>.

Ceppi puri o culture in via di sviluppo possono essere aggiunti durante la produzione di certi cibi (prodotti caseari o carni).

Ceppi selvatici di questi batteri sono presenti sulla superficie di vegetali utilizzati e possono essere indicatori di corruzione del cibo.

#### . MUFFE

Sono microorganismi eucarioti coltivati su terreni con cloramfenicolo (antibiotico) per 5 giorni a 25°C. Le muffe sono potenziali produttori di micotossine, sostanze che hanno un impatto negativo sulla salute umana.

La presenza di queste non indica necessariamente l'ammuffimento del prodotto, ma indica la presenza di spore.

La principale fonte di muffe è il terreno in cui le piante sono a contatto.

#### . LIEVITI

Sono simili alle muffe, possono fermentare i substrati saccaridici producendo etanolo e CO<sub>2</sub>.

Il lievito più comune è il *Saccharomyces cerevisiae*, utilizzato nella fermentazione di vino, birra e fermenti.

Sono presenti sulla superficie dei substrati delle piante (per esempio piante, frutti, ortaggi, ecc)

Sono inoltre abbastanza osmotolleranti (resistono ad alte concentrazioni di zuccheri) e resistono a concentrazioni 18/20 % di alcool.

Possono corrompere substrati sacca ridici come il miele.

#### . BATTERI PSICOTROFICI

Sono microorganismi rilevati sui terreni Agar non selettivi dopo 10 giorni di coltivazione a 6°C.

La temperatura ottimale è 20°C, ma possono crescere anche a 6°C. Motivo per cui possono corrompere il cibo anche in frigorifero.

Ne fanno parte alcuni batteri acido lattico, lieviti o batteri *Pseudomonas*.

La capacità di produrre enzimi è la causa delle variazioni percepibili nel cibo (calore, odore, sapore, ecc).

#### .BATTERI COLIFORMI

Sono coltivati su terreni VRBL per 24 ore a 37°C.

Sono anaerobici facoltativi che possono avere origine dalle feci.

Questo fatto può non essere vero nel cibo dove i batteri Coliformi indicano una contaminazione secondaria. Sono indice della possibile presenza di microorganismi patogeni come *Escherichia Coli*, *Salmonella*, ecc.

## 1.2 Risultati dell'analisi microbiologica.

Tutti i risultati sono espressi in Unità Formante Colonie (UFC) per 1 ml di agente terapeutico all'Aloe.

Un UFC significa un microorganismo o spora in grado di crescere e riprodursi.

Tab. 1 Conta totale microorganismi

campioni	Giorni di incubazione							
	0	2	5	7	9	12	14	16
1	41	86	14	18	14	23	23	$6,7 \times 10^2$
2		70	91	27	23	$1,3 \times 10^5$	$8,7 \times 10^5$	$6,7 \times 10^6$
3	32	50	18	27	27	18	59	27
4		35	$1,2 \times 10^2$	27	14	77	32	36
5	45	85	$1,5 \times 10^2$	27	41	27	59	36
6		45	$2,2 \times 10^2$	27	41	$1,7 \times 10^3$	$5,5 \times 10^5$	$2,8 \times 10^5$
	Giorni di incubazione							
	19	21	23	26	30	35	40	47
1	1,3	23	5	15	64	14	5,9	14
2	$1,8 \times 10^7$	$2,7 \times 10^5$	$8,4 \times 10^6$	$4,1 \times 10^6$	$6,2 \times 10^6$	$6,2 \times 10^6$	ND	$1,2 \times 10^3$
3	22	14	11	10	64	4,5	4,5	18
4	ND	5	5	$4 \times 10^2$	$2 \times 10^5$	$1,8 \times 10^7$	$7,5 \times 10^7$	$1,2 \times 10^7$
5	18	32	7	15	27	18	4,5	18
6	$2,5 \times 10^7$	$9,5 \times 10^4$	$2,1 \times 10^7$	$1,5 \times 10^7$	$3,6 \times 10^7$	$1,2 \times 10^6$	ND	$5,9 \times 10^3$

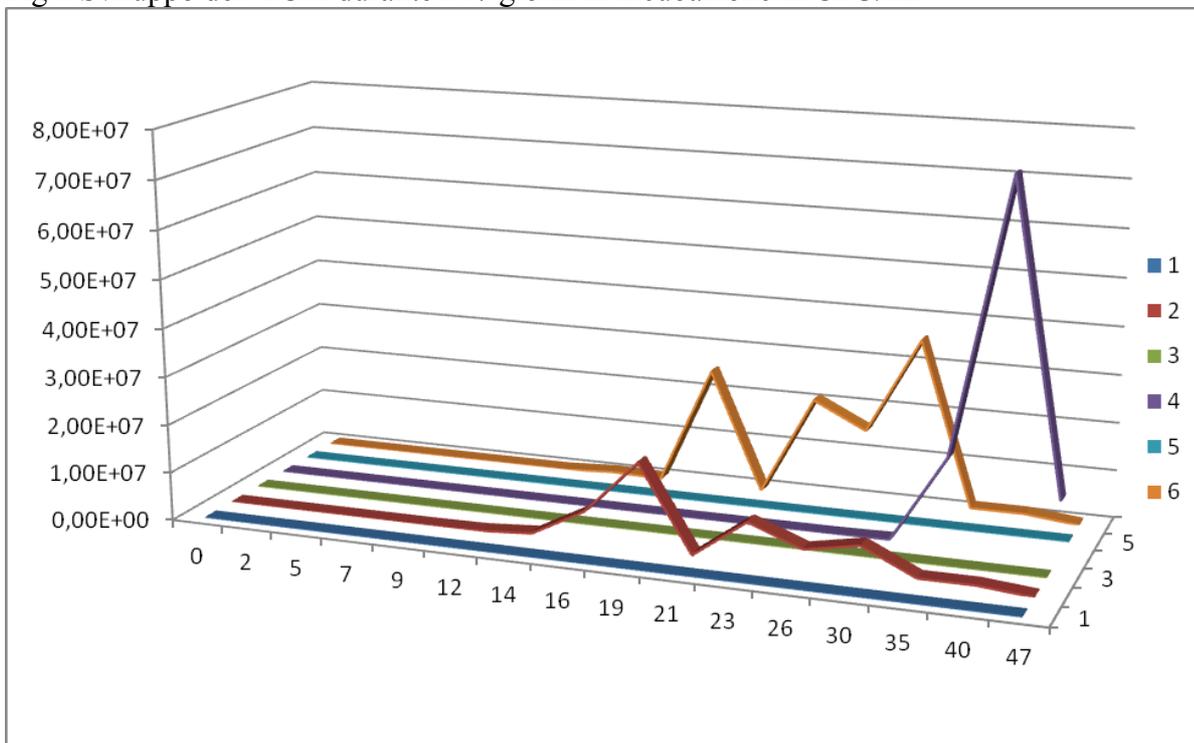
UFC – unità formante colonie; ND – non rilevato

Come visibile nella tabella, la conta totale nei campioni conservati a 6°C mostra valori stabili durante il periodo di sperimentazione.

Viceversa nei campioni conservati a 25°C si riscontra uno sviluppo intenso di microflora dal 19° giorno di sperimentazione.

Il campione a 25°C con metà miele comparato a quello della ricetta tradizionale, presenta una crescita più lenta dei microorganismi, ma raggiunge la conta più alta al 40° giorno.

Fig 1 Sviluppo del TCM durante i 47 giorni in incubazione in CFU/ml



Tab 2 Analisi Microbiologica dei Batteri Acido Lattico in CFU/ml

Giorni di incubazione								
campioni	0	2	5	7	9	12	14	16
1	9	6	1	1	6	10	ND	3
2	ND	7	10	15	2,4 x 10 <sup>3</sup>	3,1 x 10 <sup>4</sup>	4,8 x 10 <sup>4</sup>	3,1 x 10 <sup>6</sup>
3	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND

4	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
5	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
6	ND	1	ND	ND	ND	3,8 x 10 <sup>3</sup>	4,7 x 10 <sup>5</sup>	1,9 x 10 <sup>6</sup>

Giorni di incubazione								
	19	21	23	26	30	35	40	47
1	1	ND	4	4	ND	ND	ND	ND
2	1,7 x 10 <sup>7</sup>	8,8 x 10 <sup>6</sup>	1,9 x 10 <sup>7</sup>	1,9 x 10 <sup>7</sup>	1,8 x 10 <sup>7</sup>	4,1 x 10 <sup>4</sup>	ND	1,5 x 10 <sup>3</sup>
3	ND	ND	ND	1	ND	ND	ND	ND
4	ND	ND	ND	5,9 x 10 <sup>2</sup>	2,6 x 10 <sup>4</sup>	1,5 x 10 <sup>7</sup>	1,1 x 10 <sup>6</sup>	7,2 x 10 <sup>6</sup>
5	ND							
6	2,5 x 10 <sup>7</sup>	8,3 x 10 <sup>6</sup>	1,3 x 10 <sup>7</sup>	2 x 10 <sup>7</sup>	2,7 x 10 <sup>7</sup>	7,4 x 10 <sup>5</sup>	ND	1,5 x 10 <sup>4</sup>

UFC – unità formante colonie; ND – non rilevato

Stessa situazione della CTM per la determinazione di batteri acido lattico e lieviti dove entrambi i gruppi di microorganismi sono ridotti in tutti i campioni. Dal 14° giorno, i campioni con normale miele a 25°C (ricetta normale e senza alcool) hanno mostrato aumento dei batteri lattici.

Al 35° giorno, si riscontra un crollo del numero di batteri lattici probabilmente per l'esaurimento delle sostanze nutritive e l'accumulo delle sostanze di scarto.

Nel campione con metà miele, lo sviluppo dei microorganismi è più lento e riscontrabile dal 30° giorno.

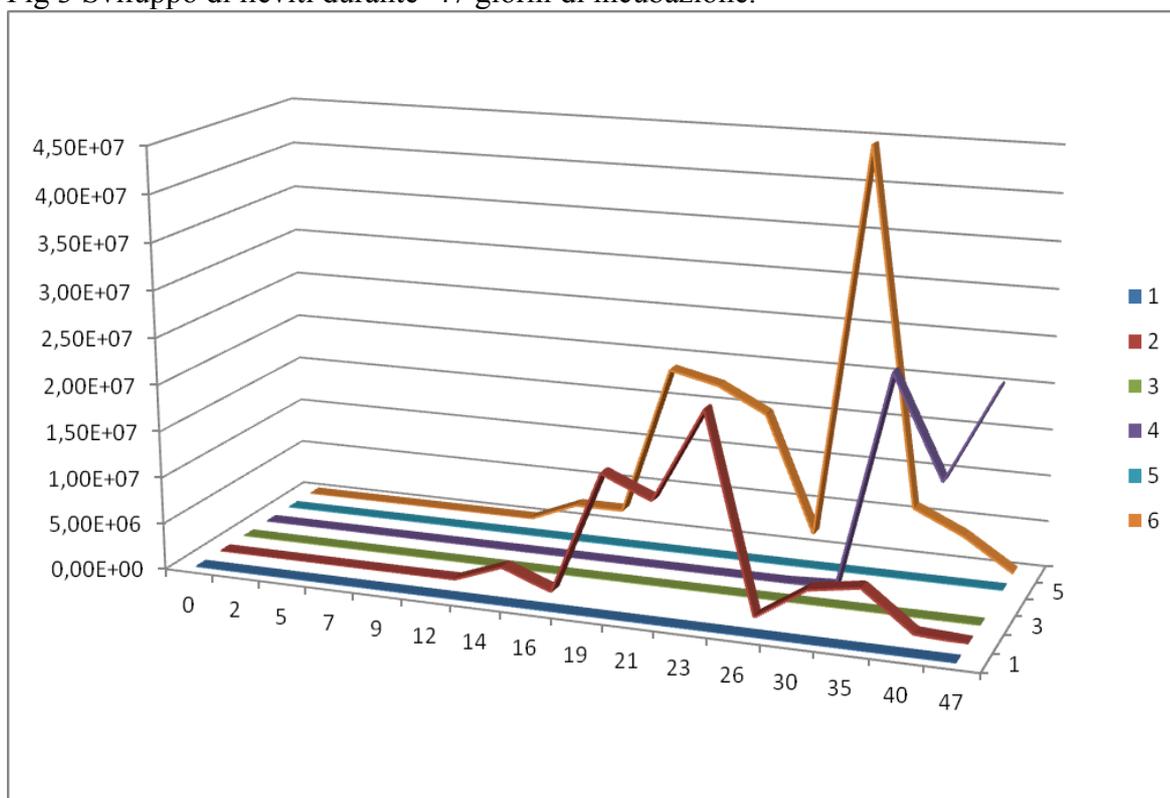
I campioni a 6°C sono stabili e con scarsa conta di batteri-lattici e lieviti per tutta la sperimentazione.

Tab 3 Analisi microbiologica dei lieviti in UFC/ml

Giorni di incubazione								
<b>campioni</b>	<b>0</b>	<b>2</b>	<b>5</b>	<b>7</b>	<b>9</b>	<b>12</b>	<b>14</b>	<b>16</b>
<b>1</b>	3	10	7	2	ND	2	11	7
<b>2</b>	ND	1	2	48	$7,2 \times 10^2$	$4,8 \times 10^4$	$2 \times 10^6$	$3,7 \times 10^4$
<b>3</b>	ND							
<b>4</b>	ND							
<b>5</b>	ND							
<b>6</b>	ND	ND	ND	ND	2	$4,3 \times 10^3$	$2,2 \times 10^6$	$2,1 \times 10^6$
Giorni di incubazione								
	<b>19</b>	<b>21</b>	<b>23</b>	<b>26</b>	<b>30</b>	<b>35</b>	<b>40</b>	<b>47</b>
<b>1</b>	5	4	14	3	5	5	14	ND
<b>2</b>	$1,3 \times 10^7$	$1,1 \times 10^7$	$2,1 \times 10^7$	$3,6 \times 10^6$	$3,6 \times 10^6$	$4,4 \times 10^6$	$3,1 \times 10^5$	$7,7 \times 10^3$
<b>3</b>	ND							
<b>4</b>	ND	ND	ND	$1,7 \times 10^3$	$2,7 \times 10^5$	$2,4 \times 10^7$	$1,3 \times 10^7$	$2,3 \times 10^7$
<b>5</b>	ND							
<b>6</b>	$1,9 \times 10^7$	$1,7 \times 10^7$	$1,5 \times 10^7$	$2 \times 10^6$	$4,5 \times 10^7$	$6 \times 10^6$	$3,6 \times 10^6$	$5,6 \times 10^4$

UFC – unità formante colonie; ND – non rilevato

Fig 3 Sviluppo di lieviti durante 47 giorni di incubazione.



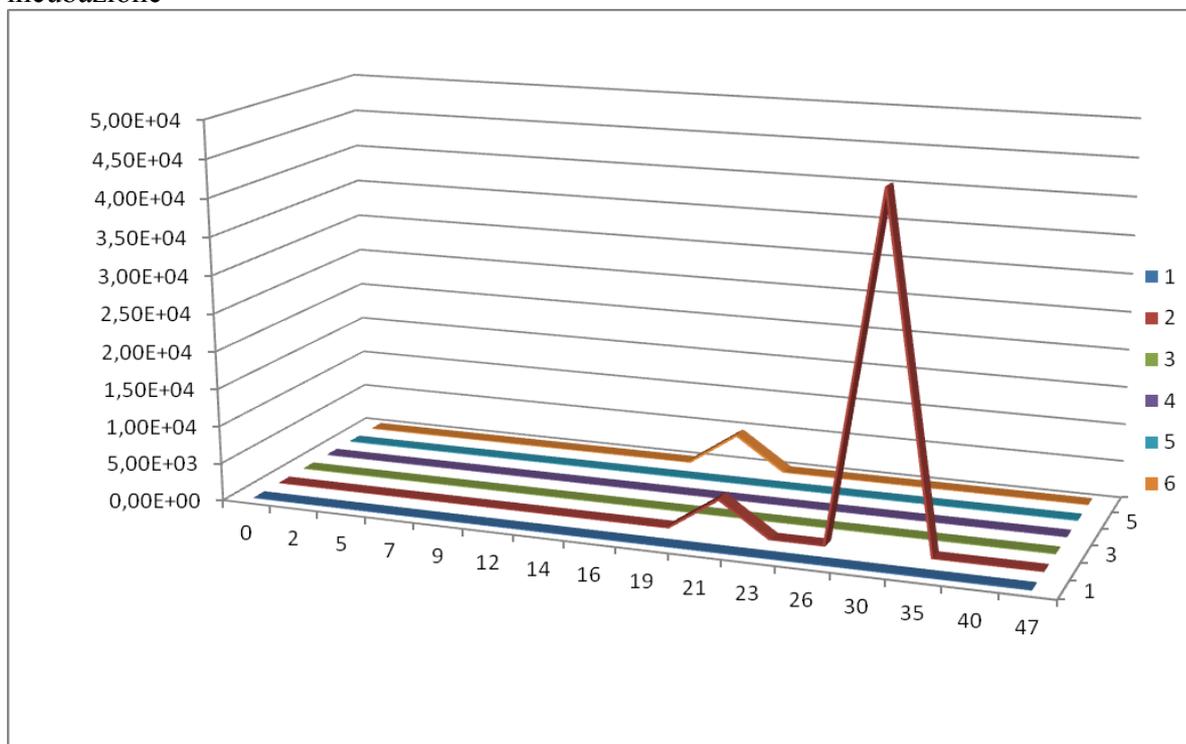
Tab 4 Analisi microbiologica di lieviti in UFC/ml

		Giorni di incubazione							
campioni	0	2	5	7	9	12	14	16	
1	2	1	1	2	2	ND	3	1	
2	ND	1	ND	1	ND	ND	ND	ND	
3	1	3	ND	1	ND	ND	1	ND	
4	ND	1	ND	ND	ND	ND	ND	ND	
5	6	2	3	2	1	ND	4	ND	
6	ND	3	ND	ND	ND	ND	ND	ND	
		Giorni di incubazione							
	19	21	23	26	30	35	40	47	
1	1	2	3	ND	ND	ND	2	ND	
2	ND	4,6 x 10 <sup>3</sup>	ND	ND	4,6 x 10 <sup>4</sup>	ND	ND	ND	
3	1	ND	1	ND	ND	ND	1	ND	
4	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	
5	2	ND	6	2	ND	ND	ND	ND	
6	4,6 x 10 <sup>3</sup>	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	

UFC – unità formante colonie; ND – non rilevati

La conta delle muffe è bassa, uno sviluppo intenso si è riscontrato solo al 30° giorno nel campione ricetta di Padre Zago a 25°c.

Fig 4 Sviluppo di muffe durante i 47 giorni di incubazione



Tab 5 Analisi microbiologica dei batteri psicotrofici in CFU/ml

		Giorni di incubazione							
campioni	0	2	5	7	9	12	14	16	
1	41	ND	1	ND	ND	ND	ND	ND	
2	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	
3	32	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	
4	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	
5	46	ND	ND	ND	ND	1	ND	ND	
6	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	
		Giorni di incubazione							
	19	21	23	26	30	35	40	47	
1	ND	ND	14	15	5	1	1	ND	
2	ND	ND	$8,4 \times 10^5$	$1,1 \times 10^5$	$1,1 \times 10^5$	ND	ND	ND	
3	ND	ND	3	4	ND	ND	ND	ND	
4	ND	ND	1	$1,7 \times 10^3$	$2 \times 10^4$	$1,1 \times 10^7$	$6,2 \times 10^6$	$9,6 \times 10^7$	
5	ND	ND	4	1	ND	ND	ND	ND	
6	ND	ND	$1,7 \times 10^6$	$6,6 \times 10^6$	$5,3 \times 10^5$	ND	ND	ND	

La conta dei microorganismi psicotrofici è molto bassa all'inizio.  
 Cresce nel tempo con l'aumentare dei batteri lattici e dei lieviti che mostrano abilità nel crescere anche alla temperatura di 6°C  
 La crescita maggiore è nei campioni a 25°C (normale e senza alcool).  
 Un valore molto alto è riscontrato al termine dell'esperimento nel metà miele.  
 I campioni mantenuti a 6°C hanno valori stabili.

## 2. Comparazione delle analisi microbiologiche dopo l'esperimento

Durante le analisi nei 47 giorni, altri 6 campioni sono stati tenuti sigillati alla stesse temperature. (6°C e 25°C).  
 Questi 6 campioni sono stati aperti al 47° giorno e si è provveduto alle analisi microbiologiche.

Sono stati comparati i 2 gruppi dopo i 47 giorni

- a) campioni I (aperti al primo giorno di incubazione)
- b) campioni II (aperti dopo 47 giorni di incubazione)

## 2.2 Results

Tab 6 Analisi microbiologica dopo 47 giorni

campioni	CTM		Batteri Acido Lattico		Muffe	
	I.	II.	I.	II.	I.	II.
1	13	32	ND	ND	ND	1
2	$1,2 \times 10^3$	$2,6 \times 10^5$	$1,5 \times 10^3$	$1,6 \times 10^6$	ND	ND
3	18	9	ND	ND	ND	1
4	$1,2 \times 10^7$	$4,9 \times 10^4$	$7,2 \times 10^6$	$1,5 \times 10^4$	ND	ND
5	18	9	ND	ND	ND	1
6	$5,9 \times 10^3$	$1,5 \times 10^5$	$1,5 \times 10^4$	$7,7 \times 10^5$	ND	ND
campioni	Lieviti		Batteri Psychrotrofici		Batteri Coliformi	
	I.	II.	I.	II.	I.	II.
1	ND	ND	ND	ND	ND	ND
2	$7,7 \times 10^3$	$3,9 \times 10^4$	5	$2,4 \times 10^4$	ND	ND
3	ND	ND	ND	1	ND	ND
4	$2,3 \times 10^7$	$6,7 \times 10^2$	$9,6 \times 10^7$	1	ND	ND
5	ND	ND	ND	ND	ND	ND
6	$5,6 \times 10^4$	$2,2 \times 10^7$	ND	$4,6 \times 10^2$	ND	ND

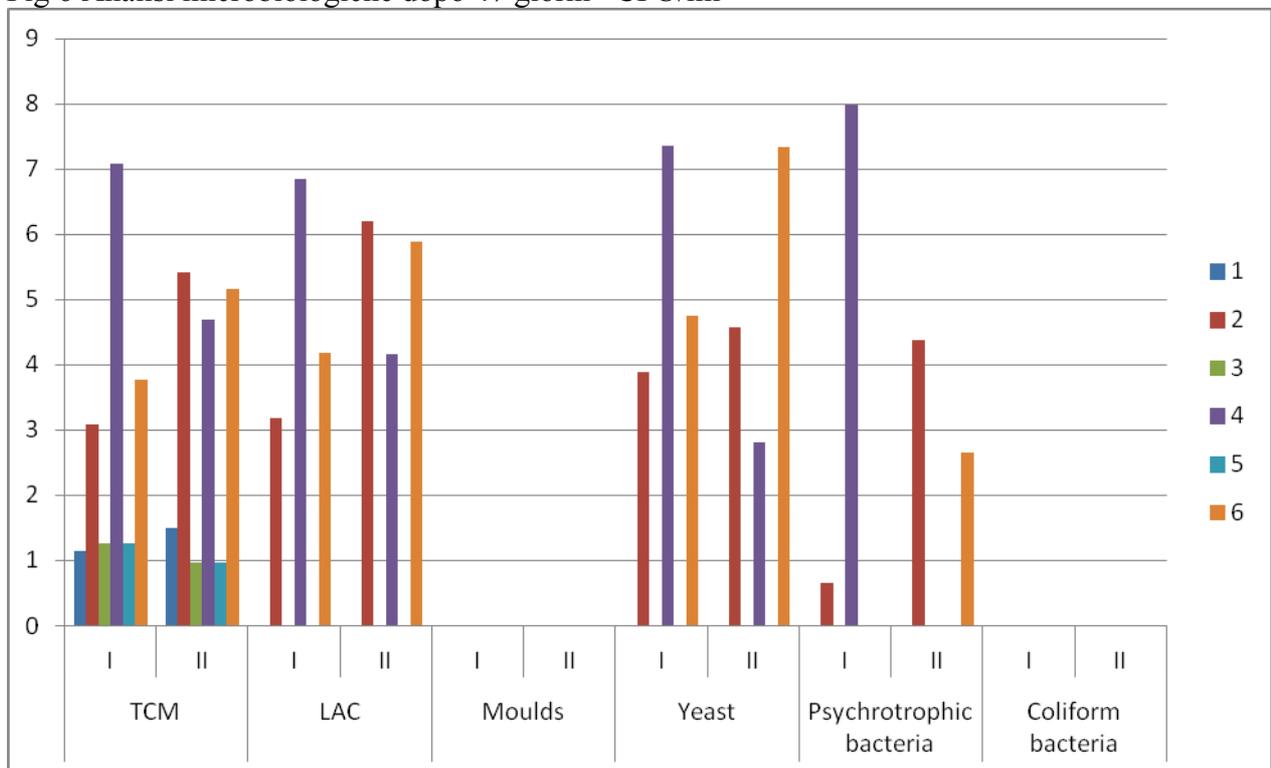
I. – campioni I (aperti al primo giorno di incubazione)

II. – campioni II (aperti dopo 47 giorni di incubazione)

UCF – unità di colonie formate; ND – non rilevato

Dai risultati è chiaro come l'introduzione di aria ha un impatto sulla microflora degli agenti terapeutici dell'Aloe. Nessuna variazione significativa è riscontrata in tutti i campioni tenuti a 6°C di entrambi i gruppi (I e II), mentre valori decisamente più alti si sono rilevati nei campioni tenuti a 25°C. Nei campioni a 25°C del gruppo I era presente solo una piccola parte della conta comparata ai valori del 14° e 30° giorno. Al termine dell'incubazione, la conta dei microorganismi è diminuita perché molti di essi sono gradualmente morti. Nei barattoli sigillati del secondo gruppo (II) tenuti a 25° C si è manifestata una conta più alta perché il loro sviluppo intenso è stato rallentato dall'ambiente anaerobico. Solo al 47°C giorno di incubazione si è manifestata un'evidente aumento della conta batterica. Tutti i gruppi di campioni del gruppo I tenuti a 6°C mostrano approssimativamente gli stessi valori mentre alcuni dei microorganismi (batteri coliformi) non sono stati rilevati per niente

Fig 6 Analisi microbiologiche dopo 47 giorni CFU/ml



### 3. Conclusioni

Dai risultati è chiaro che la CTM - conta batterica totale include principalmente fermenti lattici e lieviti.

Batteri coliformi non sono stati riscontrati del tutto.

Ciò dimostra un buon livello di tecnologia, igiene ed eliminazione della contaminazione secondaria.

La temperatura di conservazione gioca un ruolo fondamentale, infatti crescita batterica intensa e modificazioni delle qualità sensoriali (fermentazione, odore, ecc) sono state rilevate in tutti i campioni conservati a 25°C.

Tab 6 Valori consentiti nel cibo dalla Repubblica Ceca (ČSN 56 9609)

<b>Gruppi di microorganismi</b>	<b>KTJ/g or ml</b>
<b>CTM</b>	$< 10^5$
<b>Lieviti</b>	$< 10^7$
<b>Muffe</b>	$< 10^4$

Si deduce che, aperti o chiusi, i prodotti sono microbiologicamente stabiliti se conservati a 6°C per tutto il periodo di 47 giorni.

A 25°C c'è un deterioramento più veloce e la stabilità e la qualità non possono essere garantite per questo periodo.

Ovviamente la stabilità microbiologica ha a che fare anche con le abitudini igieniche dei consumatori che possono aumentare la contaminazione microbica. Se vengono osservate opportune tecniche di manipolazione e conservazione non ci dovrebbero essere incrementi significativi.

Il campione senza alcool conservato a 6°C ha mostrato risultati simili a quelli con alcool. Si può supporre quindi che il fattore rilevante per la stabilità microbica è quindi la temperatura e non l'alcool (a questa concentrazione).

Raccomandazione: se il prodotto è distribuito ad altre parti d'Italia (es. Sicilia), è raccomandato il trasporto con refrigerazione o di mettere in frigorifero subito dopo il trasporto.

Le raccomandazioni per il consumatore dovrebbero essere menzionate sulla confezione: conservare in luogo fresco e asciutto ( frigorifero fino a 6°C)

In tal caso la confezione aperta dura 47 giorni.



**AZ. AGRICOLA GIUSEPPE DESTER**

Crociale di Manerba del Garda (BS)  
T. 0365 651056 / F. 0365 651812  
P.IVA 00158550988  
info@gardendester.it