

STUDIO PRELIMINARE DEL PROFILO FERMENTATIVO DELLE BRODE PER SUINI IN FUNZIONE DELLA LORO COMPOSIZIONE

PRELIMINARY STUDY OF THE FERMENTATIVE PROFILE OF LIQUID FEEDS FOR SWINE ACCORDING TO THEIR COMPOSITION

BAZZOLI A.¹, DEMEY V.², GUILLOU D.², HOCKE N.¹.

1 Lallemand Animal Nutrition - Italia

2 Lallemand Animal Nutrition - Francia

Parole chiave: Broda, fermentazioni, pH, AGV, Lattobacilli.

Key words: Liquid feed, fermentation, pH, VFA, Lactic bacteria

Riassunto

Allo scopo di monitorare il profilo fermentativo dei diversi tipi di broda più utilizzati nella pratica di allevamento dei suini all'ingrasso nel Nord Italia, e l'eventuale effetto di ingredienti diversi su quest'ultimo, sono stati analizzati 44 campioni di broda prelevati da 41 allevamenti diversi. Tutti i campioni sono stati testati per S.S., pH, Etanolo e A.G.V. (Ac. Acetico, Ac. Iso-butyrico, Ac. N-butyrico, Ac. Lattico, e Ac. Propionico). In base alla loro composizione le brode sono state classificate in 4 gruppi. Le brode composte da sola acqua e mangime avevano un pH più alto e un minor contenuto in ac.lattico e acetico rispetto a quelle contenenti anche pastone di mais e/o siero. Le brode contenenti pastone di mais hanno fatto registrare i livelli più alti di etanolo. E' stata rilevata una forte correlazione tra concentrazione di ac. lattico e pH, e tra lattico e acetico. Gli acidi propionico, iso-butyrico e N-butyrico sono stati rilevati in piccole quantità solo in una parte dei campioni. Un effetto numerico sul pH è stato osservato nelle brode che impiegavano acidificanti o lattobacilli. Inoltre, nelle brode con l'aggiunta di lattobacilli è stato evidenziato un aumento significativo del contenuto di ac. acetico ed un aumento numerico dell' ac. lattico. Non sono state rilevate differenze significative sulle performance di allevamento delle 4 tipologie di broda.

Abstract

In order to monitor the fermentation profile of different types of liquid feeds used in fattening pigs in northern Italy, and the possible effect of different ingredients on the fermentation, 44 samples of soup taken from 41 different farms were analyzed. All samples were tested for D.M., pH, Ethanol and VFA (Acetic ac., Iso-butyric and N-butyric ac., Lactic ac. and Propionic ac.). The soups were classified into 4 groups according to their formulation. The soups composed of only water and feed had a higher pH and a lower content of lactic and acetic acid compared to those containing High Moisture Corn and / or whey. Soups containing HMC showed higher levels of ethanol. A strong correlation was found between the concentration of lactic acid and pH and between lactic and acetic acid. Propionic acid, iso-butyric acid and N-butyric acid were detected in low quantities only in a part of the samples. A numerical effect on pH was observed in soups which contained added acidifiers or Lactic Acid Bacteria. Soups containing added LAB reported a statistically significant effect for a higher content in acetic acid and a numerical higher content of lactic acid. There were no significant differences on farm's performances between the 4 types of liquid feeds.

INTRODUZIONE

L'alimentazione dei suini all'ingrasso con alimento liquido è una pratica ricorrente e tradizionale nel Nord Italia. Questo tipo di somministrazione dell'alimento è considerato particolarmente vantaggioso per la facilità e la rapidità di distribuzione, l'appetibilità e la possibilità di un maggior utilizzo di materie prime di produzione aziendale (pastone di mais) e la possibilità di valorizzare una parte di sottoprodotti liquidi dell'industria (siero, distillati ecc.). L'alimento liquido in genere è composto da una diluizione delle materie prime secche con acqua o siero fino ad ottenere una broda con un SS media compresa tra il 15 ed 25% (Tab. 1). Questo livello elevato di umidità innesca l'attività della flora microbica presente nelle materie prime ed i prodotti di queste fermentazioni microbiche possono essere molto variabili in base al tipo di microrganismi presenti nei vari componenti del mangime ed alla flora presente nell'impianto di preparazione e distribuzione (biofilm). [3,5,11,12]. Dato l'elevato contenuto in amido e zuccheri fermentescibili nelle diete per suini all'ingrasso, l'alimento liquido è un substrato ideale per la fermentazione microbica. Normalmente la flora predominante della broda dovrebbe essere quella lattica, tuttavia diversi fattori esterni tra i quali: flora epifitica delle materie prime, condizione di stoccaggio, temperatura ambientale, ecc. possono variare il microbiota presente nell'alimento liquido con il rischio di sviluppo di batteri indesiderati quali coliformi, clostridi e salmonelle [3,5,11]. Per ovviare a questo rischio è auspicabile favorire lo sviluppo di abbondante flora lattica la quale è in grado di contrastare la crescita dei patogeni sia per competizione sia creando un ambiente sfavorevole alla loro moltiplicazione grazie alla produzione di AGV i quali abbassano il pH del substrato [3,4,5,11]. Per questo motivo è comune il ricorso ad additivi quali acidificanti e batteri lattici per controllare il pH e/o le fermentazioni della broda [2,11,13]. Lo scopo del presente studio era monitorare il profilo fermentativo dei diversi tipi di broda più utilizzati nella pratica di allevamento dei suini all'ingrasso nel Nord Italia, per verificare se ingredienti diversi (inclusa l'acqua) influenzano il pH, il profilo fermentativo della broda e se questi parametri abbiano un legame con le performance di ingrasso.

Tabella 1. Livelli di sostanza secca rilevati nei campioni analizzati.

Table 1. Dry matters levels detected in analyzed sample.

	Media (\pm DS)	Minima	Massima
Sostanza Secca Broda %	21.19 \pm 4.25	13.48	32.38

MATERIALI E METODI

Lo studio ha avuto luogo, dal 18 Marzo al 5 Giugno e dal 28 Agosto al 17 Ottobre 2014. E' stato appositamente tralasciato il periodo estivo, per evitare l'influenza delle alte temperature sulle fermentazioni della broda.

L'indagine ha riguardato 41 allevamenti diversi siti nelle province di Bs, Cr, Mn, Mo, Tn e Vr. Di questi allevamenti 21 erano siti d'ingrasso e 20 erano a ciclo chiuso.

Da questi allevamenti sono stati prelevati 44 campioni, in doppio falcone da 500 ml con tappo a vite, di broda destinata a suini nella fase di ingrasso, peso vivo tra i 100 e 170 kg. La scelta è ricaduta su questa fase poiché le formulazioni destinate ai suini grassi hanno minor variabilità nei componenti. Il prelievo dei campioni è stato eseguito nel box dei suini, prelevando la broda dal condotto di distribuzione, direttamente dal foro di uscita di quest'ultima.

Al momento del prelievo inoltre, sono stati registrati i seguenti parametri: pH dell'acqua (utilizzata per la broda), pH della broda, temperatura ambiente e temperatura della broda. Per la misurazione della temperatura in allevamento è stato utilizzato un termometro digitale con sonda da 120 mm, e risoluzione 0.1°C, per la misurazione del pH è stato utilizzato un pHmetro portatile con una risoluzione di 0,1.

Tutti i campioni sono stati analizzati presso un unico laboratorio accreditato per S.S., pH, Etanolo e A.G.V. (Ac. Acetico, Ac. Iso-butirrico, Ac. N-butirrico, Ac. Lattico, e Ac. Propionico). Per l'analisi della S.S. è stato utilizzato il metodo gravimetrico, mentre per l'analisi degli A.G.V. ed etanolo è stata utilizzata la gascromatografia secondo il metodo di Fussell e McCalley [7]. I campioni prima di essere consegnati al laboratorio sono stati congelati tutti nello stesso momento, 6h dopo il prelievamento, al fine di poterli comparare tra loro. Durante il trasporto e lo stoccaggio i campioni prelevati sono stati mantenuti a una temperatura compresa tra 16 e 21°C. Le temperature minime e massime di stoccaggio sono state registrate utilizzando un termometro digitale.

Al momento del campionamento sono state registrate ulteriori informazioni in merito alla formulazione della broda: utilizzo di sottoprodotti (nel caso di utilizzo di sotto prodotti liquidi a questi è stato misurato il pH), eventuale utilizzo e tipo di antibiotici e/o altre sostanze inibenti (H₂O₂, Cl, CuSO₄, ZnO), presenza di acidificanti e Lattobacilli. Sono state prese in considerazione anche le performance di allevamento registrando I.P.G. , I.C.A., e la mortalità generale (nella fase d'ingrasso) nei sei mesi precedenti al momento dell'indagine.

Analisi statistica: Per il confronto tra i dati medi dei gruppi è stato applicato il metodo GLM univariato, mentre per il confronto dei dati inseriti in grafico è stata effettuata una correlazione di tipo lineare.

RISULTATI

Le brode analizzate sono classificabili in 4 tipologie

Tipo A Mangime + acqua - 15 Campioni

Tipo B Mangime+ pastone + acqua - 14 Campioni (Contenuto medio di pastone 50% stq)

Tipo C Mangime + siero + acqua - 8 Campioni (Contenuto medio di siero 25% stq)

Tipo D Mangime + pastone+ siero + acqua - 7 Campioni (Contenuto medio di pastone 30% stq, contenuto medio di siero 15% stq)

Risultati relativi al pH

Il pH delle brode al momento del prelievo variava da un minimo di 4,5 ad un massimo di 6,4.

Il pH dell'acqua è risultato molto variabile nei vari allevamenti da 6,90-8,60. Il pH dei sottoprodotti lattiero-caseari variava da 3,40 a 6,10. Il pH del pastone di mais non è stato misurato.

Le brode di tipo A avevano un pH medio (5,80) più elevato delle brode di tipo B, C, e D al momento del prelievo (4,9/4,8). Tuttavia l'andamento del pH a 6 ore è stato diverso a seconda della composizione della broda. Nelle brode contenenti mangime e acqua il pH a 6 ore era inferiore a quello al prelievo, mentre negli alimenti a base di Mangime siero e/o pastone il pH dopo 6 h era uguale o superiore a quello al momento del prelievo (Tab. 2) (Fig. 1). Il pH dell'H₂O non è risultato correlato significativamente al pH della Broda.

In 16 allevamenti che hanno segnalato l'utilizzo di prodotti commerciali a base di acidi e loro sali (propionico, formico, lattico, acetico) è stato riscontrato un abbassamento numerico del pH ma non significativo.

In 7 allevamenti utilizzatori di batteri lattici (*P. acidilactici* MA18/5M) è stato riscontrato un abbassamento numerico del pH ma non significativo.

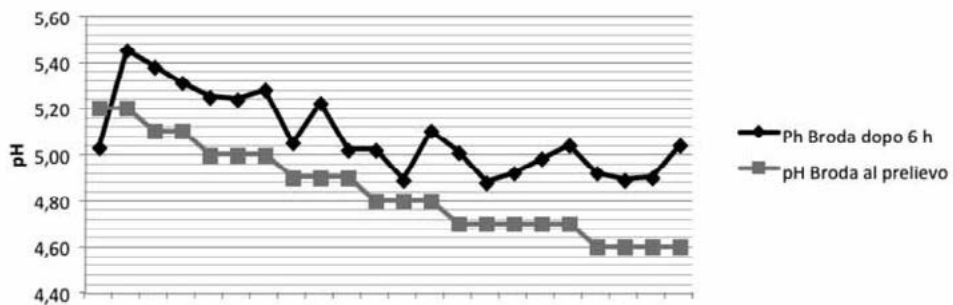
Tabella 2. Profilo fermentativo e pH caratteristico per ciascun tipo di broda.

Table 2. Characteristic fermentative profile and pH per each type of soup.

Tipologia di Broda		pH Broda	pH Dopo 6h	Ac. Lattico (gr/kg SS)	Ac. Acetico (gr/Kg SS)	Etanolo (gr/Kg SS)
Tipo A	Media	5.8 a	5.3 A	30.6 a	3.43 a	2.99 a
	ESm	0.077	0.103	4.260	0.514	1.641
Tipo B	Media	4.9 b	5.1 AB	35.4 a	4.26 ab	10.79 b
	ESm	0.053	0.053	4.169	0.281	2.044
Tipo C	Media	4.9 b	5.0 B	59.3 b	4.11ab	6.10ab
	ESm	0.227	0.141	9.475	0.392	2.772
Tipo D	Media	4.8 b	5.0 AB	56.0 b	5.63 b	11.47 b
	ESm	0.075	0.075	5.102	0.722	1.629
P-value		<0.05	<0.1	<0.05	<0.05	<0.05

Figura 1. Valore del pH delle brode con pastone di mais al prelievo e dopo 6 h

Figure 1. pH of soups containing HMC at sampling and after 6h



Risultati relativi agli AGV ed all'etanolo

Il contenuto in acido lattico era correlato sia al pH ($p < 0.01$) (Fig. 2), sia alla temperatura della broda al prelievo ($p < 0.01$). È stata inoltre rilevata correlazione tra acido lattico ed acido acetico. È noto che numerose specie di batteri lattici sono eterofermentanti e quindi è plausibile la relazione tra questi due composti [1,6,10]

Le brode di tipo A e B avevano un contenuto medio di acido lattico di circa la metà rispetto alle brode di tipo C e D (Tab 2). La temperatura dei campioni al prelievo aveva una

correlazione positiva con il contenuto di acido lattico ($P < 0.01$).

L'acido propionico è stato riscontrato in 13 campioni, non appare condizionato dalla composizione della broda ed è stato riscontrato indipendentemente dall'aggiunta o meno di miscele di additivi contenenti questo acido. Inoltre, i campioni in cui era presente il propionico presentavano un contenuto numericamente più elevato di etanolo rispetto agli altri campioni. La relazione tra questi due composti andrebbe ulteriormente verificata con altri prelievi.

L'acido Iso-butyrico ed N-butyrico sono stati individuati in piccole quantità (0,2 -0,9 g/kg/ss) in 10 campioni e non appaiono legati ad alcuna tipologia di broda. La presenza di acido butyrico non è di per sé negativa ma è rilevante in quanto potrebbe essere spia di fermentazioni di batteri non desiderabili quali i clostridi.

L'etanolo è stato rilevato in tutti i campioni da un minimo di 0,3 g/kg/ss a 28,1 g/kg di ss. Le brode contenenti pastone di mais presentano un maggior contenuto in etanolo statisticamente significativo rispetto alla brode contenenti solo mangime e acqua e/o siero (Fig. 1). Il pastone di mais può essere la fonte diretta di etanolo o apportare lieviti i quali a loro volta in anaerobiosi possono produrre etanolo a partire dagli zuccheri presenti nella broda [11].

In 16 allevamenti che hanno segnalato l'utilizzo di prodotti commerciali a base di acidi e loro sali (propionico, formico, lattico, acetico) non è stato riscontrato alcun effetto sul profilo fermentativo della broda (Tab. 3).

In 7 allevamenti utilizzatori di batteri lattici (*P. acidilactici* MA18/5M) è stato riscontrato un quantitativo di acido acetico più elevato ($P < 0.10$) ed un quantitativo numericamente maggiore di acido lattico (Tab. 3).

Grafico 1. Inclusioni di pastone di mais e livelli di etanolo (g/kg SS).

Graph 1. Inclusion of HMC and ethanol levels (g/kg DM)



Figura 2. Relazione tra contenuto di Ac.lattico e pH della broda al campionamento.

Figure 2. Relationship between Lactic acids and pH of soup at sampling.

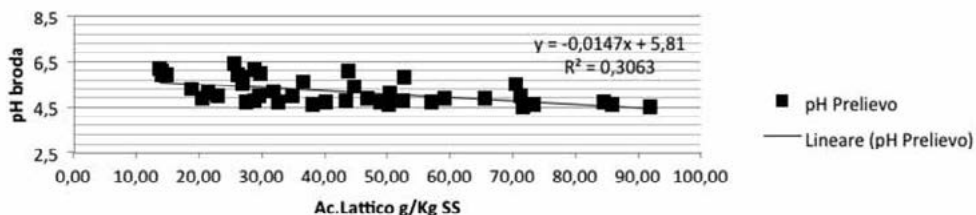


Tabella 3. Confronto tra inclusione di Lattobacilli ed Acidificanti.**Table 3.** Comparison on inclusion between Lactic acid bacteria and Acidifiers.

<i>Tipo di Additivo</i>	<i>Inclusione nella broda</i>	<i>pH</i>	<i>Ac. Lattico (gr./Kg SS)</i>	<i>Ac. Acetico (gr./Kg SS)</i>	
<i>Acidificanti</i>	<i>NO</i>	<i>Media</i>	5,3	40,96	4,14
		<i>ESm</i>	0.104	3.969	0.342
		<i>N</i>	27	28	28
	<i>SI</i>	<i>Media</i>	5,05	42,1	4,19
		<i>ESm</i>	0.137	5.55	0.375
		<i>N</i>	16	16	16
<i>Lattobacilli</i>	<i>NO</i>	<i>Media</i>	5,28	39,01	3,91*
		<i>ESm</i>	0.099	3.572	0.259
		<i>N</i>	34	35	35
	<i>SI</i>	<i>Media</i>	5,00	51,66	5,20*
		<i>ESm</i>	0.113	8.686	0.824
		<i>N</i>	7	7	7

*P<0.10

Performance di allevamento

Le tipologie di broda non hanno registrato differenze significative tra loro per quanto riguarda le performance di allevamento (IPG, ICA e mortalità). Tuttavia la mortalità media inferiore è stata registrata con brode di tipo C (siero e mangime) e quella maggiore nelle brode di tipo A (acqua e mangime) (Tab. 4).

La mortalità inoltre mostra un livello numericamente ma non significativamente più elevato negli allevamenti in cui è stato riscontrato acido butirrico nella broda. Questa tendenza andrebbe verificata con un maggior numero di campioni.

Non appaiono correlazioni evidenti tra pH della broda e mortalità, tuttavia negli allevamenti con brode più acide (pH < 4,90) la mortalità tende a valori inferiori anche se non statisticamente significativi. Una soglia di pH inferiore a 5 è considerata efficace nell'inibire la proliferazione di coliformi, clostridi e salmonelle [4,9].

Tabella 4. Performance di allevamento e tipologia di broda.**Table 4.** Farm's performances and type of soup (ADG, FCR and Mortality).

Tipologia di Broda		I.P.G. (g)	I.C.A.	MORTALITA' (%)
Tipo A	Media	711	3,60	2,88
	DS	±45	±0,30	±1,43
Tipo B	Media	724	3,46	2,78
	DS	±51	±0,22	±1,48
Tipo C	Media	736	3,57	1,84
	DS	±69	±0,32	±0,99
Tipo D	Media	721	3,69	2,65
	DS	±19	±0,16	±0,78

CONCLUSIONI

Il pH ed il profilo fermentativo delle brode sono diversi a seconda della tipologia degli ingredienti impiegati.

Il pH dell'alimento liquido al prelievo è molto superiore nel tipo A rispetto alle altre tipologie. La presenza di siero (Tipo C e D) sembra influenzare in modo rilevante il contenuto di acido lattico ed acetico delle brode rispetto alle altre tipologie. Vi sono correlazioni tra pH, temperatura della broda ed acido lattico e tra acido lattico ed acido acetico. Sembra esservi un legame tra presenza di acido propionico e livello di etanolo ma è necessario approfondire con ulteriori dati.

Il butirrico è raramente presente e non appare legato alla tipologia di broda ma potrebbe avere un nesso con la mortalità.

Per quanto riguarda l'aggiunta di additivi tecnologici, sia i pool di acidi sia i batteri lattici hanno avuto un effetto numerico sull'abbassamento del pH. Inoltre, le brode con aggiunta di batteri lattici avevano un contenuto numericamente più elevato di acido lattico ed quantitativo significativamente maggiore di acido acetico.

Livelli più elevati di etanolo rispetto alla media sono stati riscontrati nelle brode che contenevano pastone di mais.

Non è stata evidenziata alcuna relazione tra la tipologia della broda e le performance in allevamento. Tuttavia possiamo azzardare ad individuare alcune tipologie di brode "a rischio" per quanto riguarda la proliferazione di patogeni. Le brode con solo mangime e acqua, in quanto presentano il pH più elevato e meno acido lattico al momento della preparazione, e le brode contenenti pastone per la loro tendenza ad innalzare il pH nel tempo. Quest'ultimo potrebbe essere dovuto all'attività fermentativa di alcuni lieviti specifici che sono in grado di trasformare il Lattico in CO₂ e H₂O [11]. Questo fenomeno peraltro è molto comune negli insilati al momento dell'apertura della trincea.[8,11].

In questo lavoro abbiamo preso in considerazione solo alcuni tra i fattori che possono influenzare le fermentazioni che avvengono nell'alimento liquido per suini. Il profilo fermentativo è risultato molto variabile a seconda della composizione delle brode ma simile tra quelle contenenti ingredienti simili. Tuttavia, il microbiota e le fermentazioni in un substrato così complesso possono essere influenzati da numerosi fattori che andrebbero approfonditi in studi successivi.

BIBLIOGRAFIA

- Adler-Nissen J., Demain A.L. (1994), "Aeration-controlled formation of acetic acid in heterolactic fermentations", *Journal of Industrial Microbiology* Vol. 13, 335-343.
- Brooks P.H., Beal J.D. (2005), "Liquid feeding of pigs: implication for pig and human health", *Proceedings of the 2005 Manitoba Swine Seminar*
- Brooks P.H., Beal J.D., Niven S. (2001), "Liquid feeding of pigs: potential to reducing environmental impact and for improving productivity and food safety", *Recent advance in animal nutrition in Australia* Vol. 13, 49-63.
- Dujardin M., Elain A., Lendormi T., Le Fellic M., Le Treut Y., Sire O. (2014), "Keeping under control a liquid feed fermentation process for pigs: A reality scale pilot based study", *Animal Feed Science and Technology*, <http://dx.doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2014.04.017>
- Fantinati P. (2008), "Così l'alimentazione liquida difende la salute dei suini", *Suinicoltura* 2, 40-46.

- Fleming H.P., McFeeters R.F., Daeschel M.A. (1985), "The Lactobacilli, Pediococci and Leuconostocs: Vegetable products. In: Bacterial Starter Cultures for Foods", Gilliland, S.E., ed., CRC Press, Boca Raton, FL, 97-118.
- Fussell R.J. and McCalley D.V. (1987), "Determination of volatile fatty acids (C2-C5) and lactic acid in silages by gas chromatography". *Analyst*. 1987 vol. 112, 1213-1216.
- Kung L. (2010), "Understanding the biology of silage preservation to maximize quality and protect the environment", California Alfalfa & Forage Symposium and Corn/Cereal Silage Conference, Visalia, CA, 1-2 December, 2010 (consultare <http://alfalfa.ucdavis.edu> per scaricare il lavoro pubblicato).
- Le Treut Y. (2010), "Principes et intérêts de la soupe fermentée en alimentation porcine», Comunicazione personale.
- Lonvaud-Funel A. (1999), «Lactic acid bacteria in the quality improvement and depreciation of wine», *Antonie van Leeuwenhoek* Vol. 76, 317-331.
- Olstorp M., Karin L., Lindberg J.E., Schnurer J., Passoth V. (2008), "Population diversity of lactic acid bacteria in pig fermented with whey, wet wheat distillers' grains or water at different temperatures", *Appl. Environ. Microbiol.* vol. 74 n° 6, 1696-1703.
- Pahlow G., Muck R. E., Driehuis F., Oude Elferink S. J. W. H., Spoelstra S. F. (2003), "Microbiology of ensiling", Eds. Buxton, Madison, Wisconsin, USA: American Society of Agronomy, 31-93.
- Plumed-Ferrer C., von Wright A. (2008), "Fermented pig liquid feed: nutritional, safety and regulatory aspects" *Journal of Applied Microbiology* 106, 351-368.