

Produzioni casearie tradizionali: qualità microbiologica e sicurezza d'uso

Colombo Elena*, Dioguardi Loredana**, Franzetti Laura*

* Dipartimento di Scienze e Tecnologie Alimentari e Microbiologiche sez. Microbiologia Agraria alimentare Ecologica via Celoria, 2 Università degli Studi di Milano.** Istituto di Ingegneria agraria via Celoria, 2 Università degli Studi di Milano.

Introduzione

Studi precedenti finora si sono occupati solo di formaggi lavorati secondo uno specifico disciplinare (es. IGP ecc.) e, in generale, prodotti a partire da latte pastorizzato o crudo, con starter selezionati e in condizioni operative controllate e standardizzate in cui l'ambiente circostante ha minore incidenza nella differenziazione dei prodotti. Nel presente lavoro si vuole ottenere una caratterizzazione microbiologica del formaggio di capra realizzato in alpeggio: si tratta di un prodotto stagionale, ottenuto a partire da latte crudo con cagli commerciali e secondo diagrammi produttivi diversi nelle realtà produttive considerate. Nello specifico si vuole indagare la relazione esistente fra prodotto ed ambiente per stabilire se concretamente quest'ultimo possa avere effetti sulle caratteristiche del prodotto finito a livello sensoriale e strutturale. Questa relazione verrà valutata utilizzando anche tecniche biomolecolari (1-7) per lo studio delle diverse comunità microbiche sia a livello del prodotto che dell'ambiente.

Materiali e Metodi

I prelievi ambientali e le relative analisi microbiologiche del prodotto sono stati effettuati presso le piccole strutture produttive oggetto di studio del precedente lavoro (Dioguardi L. *et al* 2007), secondo le metodiche già descritte (8). La ricerca dei vari gruppi microbici e dei patogeni sul prodotto è stata effettuata sui terreni riportati in tabella 1.

Tabella 1: Riferimenti per la ricerca degli indici microbiologici

Indice microbiologico	Terreno	Incubazione
Carica batterica aerobia mesofila	Agar Plate Count (APC)	48-72 h; 30°C
Eumiceti totali	Yeast Glucose Chloramphenicol (YGC)	3-8 gg; 30°C
Coliformi totali / fecali	Violet Red Bile Agar (VRBA)	24 h; 37/44°C
Micrococcaceae totali	Mannitol Salt agar (MSA)	48 h 37°C
Enterococchi	Kanamycin Esculin Azide agar (KEA)	48 h 37°C
Batteri lattici totali	De Man Rogosa and Sharpe (MRS)	48 h 30°C anaerobiosi
Cocchi lattici	M17	48 h 30°C
<i>Staphylococcus aureus</i>	Baird Parker (BP)	48 h 37°C
<i>Listeria monocytogenes</i>	Standard rif. FIL/IDF143A:1995	
<i>Salmonella</i> spp.	Standard rif. FIL/IDF 93B:1995	

L'estrazione del DNA direttamente dalla matrice alimentare (kit QIAamp DNA Stool Mini Kit ,QIAGEN) è stata effettuata al fine di "recuperare" anche quelle specie microbiche non dominanti che potrebbero provenire dall'ambiente tradizionale (aria, superfici, utensili di legno e caldaie in rame) e che "sfuggono" ai metodi culturali tradizionali. L'estrazione del DNA dai ceppi isolati è stata effettuata come descritto in bibliografia (9).

L'analisi del DNA estratto dagli isolati e dalla matrice alimentare con i relativi elettroferogrammi sono stati realizzati come descritto in bibliografia (4), il DNA amplificato e sottoposto ad elettroforesi verrà identificato per confronto.

Risultati e conclusioni

Attualmente sono stati effettuati i campionamenti in tre caseifici (A, B e C) e sono state condotte le analisi microbiologiche tradizionali per i gruppi microbici riportati in figura 1 dove sono rappresentati, a titolo di esempio, i risultati delle analisi condotte sui formaggi

prodotti nei caseifici A, B e C. Le aree in viola ed in celeste rappresentano la distribuzione dei gruppi microbici ricercati rispettivamente su crosta e pasta. Si può notare come la popolazione lattica, in particolare le forme a cocco omofermentanti, sia predominante nella pasta, mentre sulla crosta, sono in numero superiore (da 2 a 3 ordini di grandezza) lieviti, muffe, enterococchi e micrococcaceae. I patogeni sono risultati assenti. In figura 2 vengono riportati, invece, i primi profili elettroforetici ottenuti dall'estrazione diretta del DNA dal formaggio prodotto presso il caseificio A. L'identificazione delle specie che determinano i picchi è stata effettuata sulla base dei valori presenti in letteratura (4).

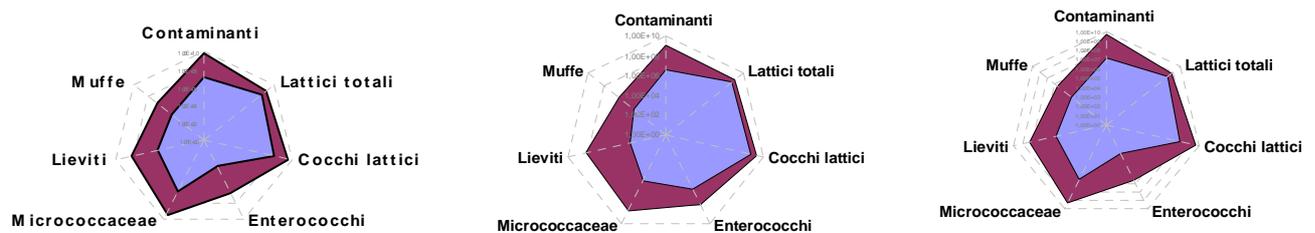


Figura 1: distribuzione dei gruppi microbici su crosta e pasta

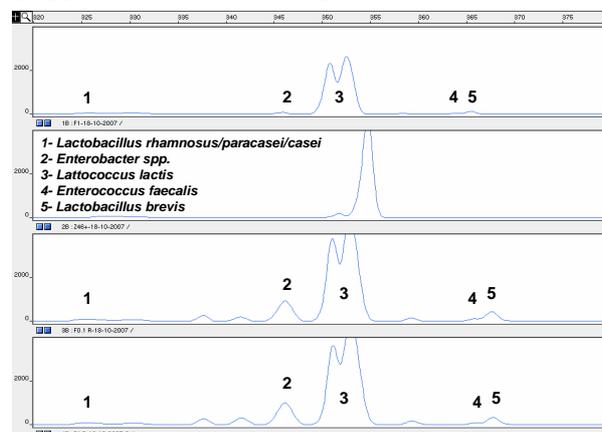


Figura 2: profilo elettroforetico ottenuto dall'estrazione diretta del DNA dal formaggio A

Bibliografia

- (1) Ogier J. *et al.* Molecular fingerprinting of dairy microbial ecosystems by use of temporal temperature and denaturing gradient gel electrophoresis. *Appl. Environ. Microbiol.* 70 (9): 5628-5643, 2004.
- (2) Parayre S, Falentin H, Madec MN, *et al.* Easy DNA extraction method and optimisation of PCR-Temporal Temperature Gel Electrophoresis to identify the predominant high and low GC-content bacteria from dairy products. *J. Microbiol. Methods* 69 (3): 431-441 2007.
- (3) Lazzi C. *et al.* Evaluation of bacterial communities belonging to natural whey starters for Grana Padano cheese by length heterogeneity-PCR. *J. Appl. Microbiol.* 96 (3): 481-490 2004.
- (4) Brusetti L. *et al.* Usefulness of length heterogeneity-PCR for monitoring lactic acid bacteria succession during maize ensiling. *FEMS Microbiol. Ec.* 56 (1): 154-164, 2006.
- (5) Soldatou H, *et al.* Populations, types and biochemical activities of aerobic bacteria and lactic acid bacteria from the air of cheese factories. *Int. J. Dairy Technol.* 59 (3): 200-208, 2006.
- (6) Mills D.K., Entry, Gillevet P.M., Mathee K. Assessing Microbial Community Diversity using Amplicon Length Heterogeneity Polymerase Chain Reaction. *Soil Science Society of America Journal* 71:572-578 (2007)
- (7) Mills D.K, Entry J., Voss J. and Mathee K. An assesment of hypervariable domains of the 16s rRNA genes for their value in determinig microbial community diversity: the paradox of traditional ecological indices. *FEMS Micr. Ec.* 57: 496-503, 2006.
- (8) Dioguardi L., Franzetti L. Indagine sulle condizioni di lavoro e qualità igienica degli ambienti di piccoli caseifici e malghe nel nord Italia. *Ind. Alim.* 45(11): 41-46, 2006
- (9) Mora D, Fortina MG, Parini C, Daffonchio D, Manichini PL. Genomic subpopulations within the species *Pediococcus acidilactici* detected by multilocus typing analysis: relationship between pediocin AcH/PA-1 producing and non producing strains. *Microbiology* 146: 2027-2038. (2000)

