



Ecologia microbica del formaggio di Malga trentino fermentato spontaneamente

Elena Franciosi*, Ilaria Carafa, Francesco Gubert, Silvia Schiavon, Kieran Tuohy, Angelo Pecile

IASMA Centro di ricerca e innovazione - Fondazione Edmund Mach, Via E. Mach, 1, 38010 S. Michele a/Adige (TN), Italy
*elena.franciosi@fmach.it

Il Trentino (Figura 1) è una regione costituita per il 70% da superficie alpina al di sopra dei 1000 metri s.l.m.. Durante la stagione estiva, le vacche vengono portate dalla valle alle malghe, situate oltre i 1400 metri. Una malga è un sistema chiuso dove la fattoria e il caseificio fanno parte di uno stesso stabilimento. Le vacche, libere di pascolare in alta montagna, vengono munte alla malga due volte al giorno e il latte viene lavorato in un caseificio solitamente adiacente alla stalla. Il prodotto ottenuto è un formaggio detto di **malga** che i turisti apprezzano.

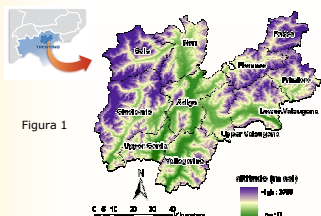
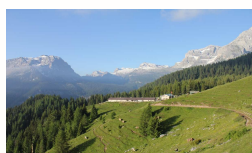


Figura 1



Gli obiettivi dello studio sono stati: caratterizzare i batteri lattici (LAB) nella prima fase di produzione del formaggio di Malga e durante la stagionatura, correlando la microflora lattica ai parametri tecnologici fisico-chimici.



METODI

Il processo di produzione del formaggio di malga è stato seguito in 8 malghe diverse per 36 giorni. Ogni giorno sono stati raccolti campioni di latte crudo di caldaia, cagliata all'estrazione, formaggio a 1 giorno, 1 mese e 7 mesi di stagionatura.

Il contenuto microbico dei campioni è stato analizzato su terreni di coltura selettivi (PCA, M17, MRS, VRBA, KEA e Agar-latte) nelle condizioni ottimali di incubazione.

Dai campioni di cagliata all'estrazione, formaggio a 1 giorno e a 7 mesi di stagionatura sono stati isolati 614 ceppi, di cui 550 erano batteri lattici (LAB).

I 550 LAB sono stati raggruppati in 312 biotipi, con omologia dell'85%, tramite RAPD (Random-Amplified Polymorphic DNA) PCR con due differenti primers.

L'identificazione a livello di specie è stata effettuata utilizzando la PCR specie-specifica e il sequenziamento parziale del gene 16S rRNA.

CONTE MICROBICHE

Tutti i gruppi microbici hanno mostrato un aumento significativo delle conte nelle prime 24 ore ed una leggera riduzione dopo 7 mesi di stagionatura. I batteri lattici mesofili e termofili (rispettivamente linea blu e rossa nella Figura 2) hanno mostrato una carica stabile fino al primo mese di stagionatura ed una riduzione nei mesi successivi. Rispetto al latte, è stato rilevato un incremento di batteri lattici mesofili e termofili di circa 3 e 5 ordini di grandezza, rispettivamente. Questo sviluppo accelerato è da considerarsi nella norma, in quanto i batteri lattici sono quelli che utilizzano il lattosio e causano l'abbassamento del pH nelle prime 24 ore. La carica dei coliformi (linea rosa nella Figura 2) nel latte è inferiore a $100/\text{ml}^{-1}$ e sembra aumentare nella cagliata 24 ore dopo l'estrazione, quando raggiunge il suo massimo valore ($4.7 \log \text{cfu/g}^{-1}$). Nel formaggio a 7 mesi la concentrazione dei coliformi si abbatte quasi a zero. Probabilmente, ciò è dovuto all'abbassamento del pH durante le prime 24 ore che ne inibisce l'ulteriore sviluppo. La carica degli enterococchi (linea nera nella Figura 2) è di circa $2.6 \log \text{CFU}/\text{ml}^{-1}$ nel latte; questo gruppo sembra crescere fino alla concentrazione di $6.8 \log \text{cfu/g}^{-1}$, valore massimo trovato nel formaggio a 1 mese di stagionatura. I batteri lattici non-starter (linea verde nella Figura 2) hanno un andamento di crescita e di sviluppo differente rispetto agli altri gruppi microbici fino a 1 mese di maturazione, quando raggiungono una carica di $8.3 \log \text{cfu/g}^{-1}$ simile a quella degli altri batteri lattici mesofili.

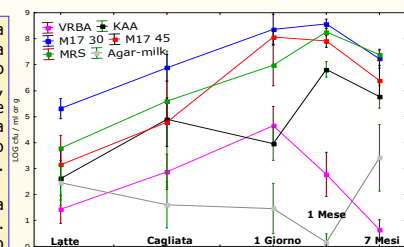
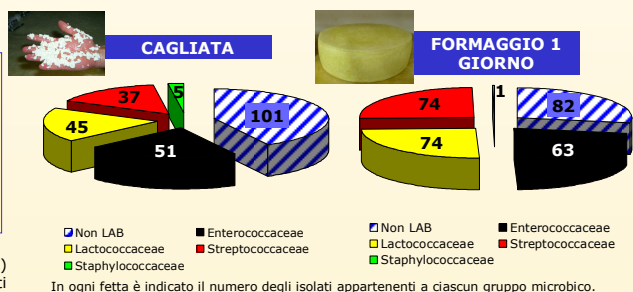


Figura 2. Conte microbiche di coliformi (VRBA), enterococchi (KAA), cocchi mesofili e termofili (M17 30°C e 45°C), bastoncelli (MRS) e batteri proteolitici (Agar-latte) presenti in campioni di latte e formaggio a differenti tempi di maturazione.

POPOLAZIONE MICROBICA NEL FORMAGGIO DI MALGA

Le Streptococcaceae isolate sono state identificate principalmente come *Streptococcus thermophilus* (48 biotipi). La maggior parte delle Lactococcaceae sono state identificate come *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* e *cremoris* (87 biotipi), con una piccola presenza di *Lactococcus garviae* (8 biotipi). Era presente anche la famiglia delle Enterococcaceae, ossia *Ec. faecalis* (43 biotipi), *Ec. faecium/durans* (22 biotipi) ed *Ec. italicus* (11 biotipi). Le sei Staphylococcaceae isolate sono state tutte identificate come *Staphylococcus xylosus*. Gli 81 isolati dai formaggi a 7 mesi di maturazione (vedi il grafico a torta in basso a sinistra) sono stati raggruppati in 58 biotipi e le specie dominanti erano *Lb. paracasei/casei*, *Pc. pentosaceus* e *Lb. rhamnosus*.

Nei due grafici a torta sulla destra sono rappresentati i 614 ceppi isolati dalla **cagliata** (239 isolati) e formaggio a **1 giorno** (294 isolati). Nel grafico a torta qua sotto sono rappresentati gli 81 isolati da formaggio a **7 mesi** di stagionatura.



FORMAGGIO A 7 MESI

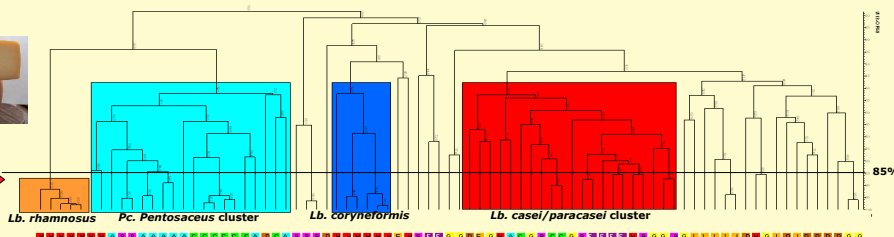
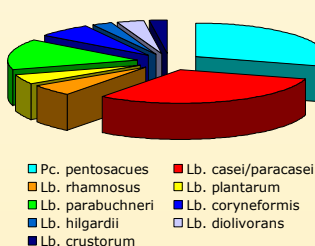


Figura 3: Dendrogramma ottenuto sulla base dei profili elettroforetici di RAPD-PCR dal DNA degli 81 ceppi isolati da campioni di formaggio stagionato per 7 mesi. È stato utilizzato il metodo *Unweighted Pair Group* come algoritmo di raggruppamento in biotipi, scegliendo 85% come *cut-off*. I numeri sui rami del dendrogramma indicano la percentuale di similarità determinata dal coefficiente di correlazione di Pearson (r). I rettangoli colorati, dalla A alla H, rappresentano le 8 differenti malghe da cui provengono i ceppi isolati.



Figura 4: Foto di tre forme di formaggio a 7 mesi di stagionatura prodotte nella malga H in tre giorni consecutivi.

CONCLUSIONI

- I batteri termofili sono sempre presenti a concentrazioni inferiori rispetto ai mesofili. Questa particolarità potrebbe essere dovuta alla temperatura di cottura, mai superiore a 46°C , e al clima fresco delle Alpi, permettendo la crescita dei gruppi mesofili.
- La dominanza del gruppo mesofilo è stata confermata dall'analisi dei ceppi isolati dopo 1 giorno di stagionatura: il microbiota era costituito, non solo dai batteri termofili, come ci si aspettava, ma anche da LAB mesofili e batteri non appartenenti al gruppo LAB. La presenza di batteri non lattici è probabile che sia conseguenza non solo della bassa temperatura di cottura ma anche della mancata aggiunta di colture *starter* durante la produzione del formaggio di malga.
- L'alta biodiversità a 7 mesi (58 biotipi ottenuti da 81 ceppi isolati) è un'ulteriore conferma dall'elevata variabilità dei formaggi prodotti: infatti nella stessa malga in tre giornate consecutive è possibile notare un'alta diversità di produzione dopo 7 mesi di stagionatura.

Ringraziamenti

Gli autori ringraziano gli operatori di malga casovoli nel progetto per il loro prezioso aiuto e supporto. La ricerca è stata sostenuta dalla Camera di Commercio, dell'Industria e dell'Agricoltura di Trento - progetto FERMALGA.