

naturalmente fonte di queste contaminazione. Per questo motivo è dunque indispensabile che l'Azienda zootecnica ponga la massima attenzione alla corretta e continua gestione della stalla, degli animali e del loro stato di salute, di tutte le operazioni di pulizia, mungitura, stoccaggio e trasporto del latte, al fine di ridurre al minimo il rischio.

■ Conclusioni

In generale si può affermare che la qualità chimico-fisica e microbiologica del latte crudo commercializzato e venduto in Piemonte, per quel che riguarda le realtà monitorate nell'ambito del progetto, si è rivelata essere di alto livello.

Di certo è bene ricordare come la gestione di un prodotto *delicato* come il latte crudo ponga responsabilità importanti in capo a tutti gli operatori di questa filiera, rivolte a garantire un costante livello di attenzione in tutte le fasi di produzione e commercializzazione.

Ci pare quindi corretto sottolineare che questa attività dovrebbe nel tempo essere gestita solo dalle Aziende che potremmo definire "di serie A" e quindi in grado di garantire al consumatore una tranquillità e sicurezza nel consumo del latte crudo.

In relazione alla discussa ordinanza che sancisce l'obbligo di bollitura, e in funzione delle evidenze fornite dal progetto, potrebbe essere ipotizzabile un'esclusione dal vincolo di quelle sole aziende che, a fronte di un rigoroso piano di autocontrollo, possano garantire una continuità qualitativa nel corso del tempo in grado di dimostrare una *ragionevole* sicurezza del loro prodotto. Di fatto si potrebbe ipotizzare l'istituzione di un sistema ispettivo per classi di conformità, cioè orientata alla diminuzione della pressione di controllo qualora emerga, dopo un ragionevole periodo di tempo, il conseguimento di specifici risultati (eventualmente riportare n° prelievi e ispezioni/trimestre, per tre livelli, come già capita per le classi di rischio nei controlli Asl). Il sistema ispettivo dovrebbe basarsi, oltre che sulla determinazione microbica sul prodotto, anche sull'evidenza degli interventi di pulizia e di manutenzione a carico dei singoli distributori e l'obbligo, da parte delle aziende, di evidenziare in particolare i piani aziendali di eradicazione dei principali patogeni, quali lo Staph. Aureus, Paratubercolosi, ecc.

Parallelamente il consumatore dovrebbe aver modo di poter conoscere meglio l'Azienda produttrice, al fine di meglio comprendere le dinamiche della produzione e la serietà del gestore.

Considerando nel dettaglio le attività svolte nel corso del progetto (oltre al campionamento, la valutazione delle procedure igieniche generali, del grado di comprensione dei pericoli per la sicurezza alimentare da parte degli ad-

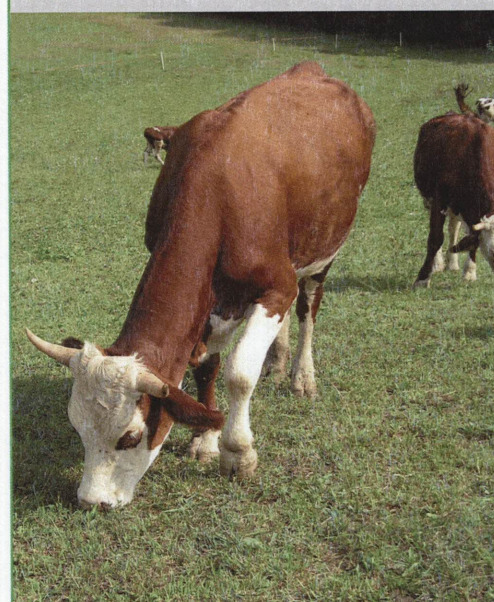


Figura 9

Il latte venduto presso i distributori automatici è prodotto in molti casi da vacche di razze locali e gestite al pascolo.

detti, ecc.) sarebbe auspicabile poter dare continuità all'attività, in quanto lo stesso ha destato l'interesse dei partecipanti, i quali hanno espresso più volte il loro apprezzamento nei confronti del lavoro svolto.

Possibili future linee di approfondimento in questo ambito potrebbero essere rivolte all'approfondimento anche sul funzionamento e sulla peculiarità dei singoli distributori, e finalizzate alla raccolta di ulteriori informazioni che permettano di evidenziare eventuali effetti e/o interazioni in loco sulla qualità del latte.

Caratterizzazione tecnologica e compositiva di formaggi ovi-caprini piemontesi

■ Introduzione

La valorizzazione dei prodotti tipici attraverso l'uso di denominazioni appropriate, la diffusione di marchi ed il ricorso a certificazioni di garanzia rappresentano già da tempo obiettivi strategici della politica regionale piemontese, parallelamente alla salvaguardia del territorio agricolo e rurale ed agli incentivi ai sistemi produttivi ecocompatibili e biologici. Grande importanza viene quindi data alla promozione di tali prodotti, all'educazione alimentare ed all'informazione ai consumatori ed è proprio grazie a queste azioni ed all'operato sinergico di aziende, Organizzazioni ed Enti locali, se oggi il Piemonte dispone di una grande vetrina di prodotti agroalimentari di eccellenza, che lo rendono noto nel panorama italiano ed estero. In quest'ambito, grande importanza hanno i prodotti lattiero-caseari e non è pertanto un caso che ben 55 dei 369 PAT piemontesi siano costituiti da formaggi, a conferma del ruolo primario di questo settore. Visto in un contesto evolutivo, occorre considerare che negli ultimi anni il comparto lattiero-caseario italiano, e quello piemontese in particolare, hanno vissuto una interessante evoluzione produttiva e commerciale. Numerosi i motivi commerciali e produttivi che stanno alla base di questa evoluzione:

- il formaggio, soprattutto quello vaccino, è considerato un alimento nutrizionalmente scompensato, troppo grasso e apportatore in particolare di grassi saturi e colesterolo a basso valore alimentare. Il consumatore, particolarmente sensibile alle problematiche nutrizionali, si è quindi spostato verso prodotti che ritiene più confacenti ai suoi nuovi stili di vita;
- si è avuta una contrazione generalizzata dei consumi di formaggi, che vengono spesso relegati a semplici contorni in insalate o preparazioni similari. Detta contrazione ha ovviamente spinto le aziende a diversificare la propria produzione e cercare nuove vie per rimanere nel mercato. In particolare ci si è orientati verso prodotti più freschi, di più veloce consumo e meno caratterizzati sensorialmente;

Giuseppe Zeppa
Marta Bertolino
Arianna Grosso
Pierpaolo Stocco
Simone Giacosa
Università di Torino - Dipartimento di Valorizzazione e Protezione delle Risorse agroforestali - Settore di Microbiologia agraria e Tecnologie alimentari

Guido Tallone
Agenform-Consorzio - Istituto Lattiero-Caseario e delle Tecnologie Agroalimentari

Gianni Comba
I.N.O.Q. - Istituto Nord Ovest Qualità



Figura 1

Immagini di formaggi caprini piemontesi.



Figura 2

- le quote latte hanno indotto molte aziende ad una conversione produttiva, abbandonando del tutto od in parte la produzione di latte vaccino a favore della produzione di carne o di latte di altre specie non vincolate al regime quale quello di bufala od ovi-caprino;
- il consumatore è costantemente alla ricerca di novità soprattutto in campo alimentare e la scoperta/riscoperta di nuovi/antichi prodotti incuriosisce; ciò può costituire un elemento fondamentale nelle dinamiche del mercato a cui i produttori devono essere particolarmente attenti, in quanto requisito oggettivamente quantificabile per una categoria di prodotti che, come citato al secondo trattino, tende invece ad essere relegata ad ingrediente secondario.

In questo nuovo scenario stanno così assumendo un particolare rilievo produttivo e commerciale i formaggi ovi-caprini sia per il loro legame storico-culturale di prodotti intimamente legati al territorio piemontese sia per il loro elevato valore nutrizionale e sensoriale.

Accanto ai sicuramente più noti e ricercati Robiola di Roccaverano DOP e Murazzano DOP sono quindi molti i formaggi tipici ovi-caprini presenti sul territorio piemontese che si sono via via diffusi fra i consumatori e la cui qualità potrebbe costituire l'elemento portante di nuove richieste di riconoscimento europeo.

Nonostante questa diffusione e rilevanza economico-commerciale i formaggi ovi-caprini, anche quelli DOP, sono però poco o nulla conosciuti sia a livello di tecnologie produttive che di caratteristiche compositive.

Gli obiettivi che si è posto il progetto di ricerca sviluppatosi negli anni 2009-2010 sono stati quindi quelli di :

- Caratterizzare dal punto di vista tecnologico, compositivo e sensoriale i formaggi ovi-caprini piemontesi che presentano la maggiore diffusione territoriale ed importanza economica ed in particolare i caprini del Verbano-Cusio-Ossola, il Cevrin di Coazze, il caprino lattico piemontese, il caprino presamico piemontese, il caprino valsesiano, la Robiola di Roccaverano DOP ed il Murazzano DOP.
- Definire ove necessario un Disciplinare di Produzione per l'eventuale futura richiesta di certificazione

■ Attività

Per quanto concerne il primo obiettivo del progetto, ossia la caratterizzazione tecnologica, compositiva e sensoriale, lo studio ha interessato 44 aziende afferenti alle 7 tipologie di prodotto previste. Durante le visite effettuate presso le aziende è stato possibile, mediante apposite schede di rilievo, definire con precisione le caratteristiche produttive aziendali, le tipologie di prodotti commer-

cializzati nonché le tecnologie di caseificazione adottate per la produzione dei formaggi ovi-caprini. Nel corso delle stesse visite sono stati prelevati campioni di formaggio a stagionatura commerciale per un totale di 82 prodotti che sono stati utilizzati per le successive caratterizzazioni compositive e sensoriali. Nella scheda seguente sono riportati a scopo esemplificativo i risultati dei rilievi produttivi effettuati per una delle tipologie di formaggio esaminate.

CAPRINO LATTICO PIEMONTESE

Il Caprino lattico piemontese è prodotto prevalentemente dalla primavera all'autunno in tutto il territorio piemontese. È un formaggio a pasta fresca prodotto esclusivamente con latte caprino e prende il nome dalla coagulazione che è di tipo lattica o, in alcuni casi, acido-presamica. La pezzatura è piccola, con un peso di 0,1-0,5 kg, un diametro di 5-15 cm ed uno scalzo di 2-7 cm. La forma è circolare, cilindrica od a piramide. La crosta sottile o quasi assente, la pasta fresca di color bianco latte e l'odore fresco caprino lo rendono ottimale per un consumo estivo. Le aziende tendono quindi ad aumentare la produzione di questo formaggio soprattutto nel periodo estivo durante il quale il caprino lattico fresco viene richiesto ed apprezzato maggiormente da consumatori e turisti.

Tecnica di caseificazione

- Latte: il latte di capra può essere crudo o pastorizzato, di due, ma in certi casi anche di 4-5 munte conservate in frigo a 4°C
- Aggiunta di fermenti: solitamente si tratta di un'aggiunta di starter commerciali meso-termofili. In alcuni casi viene utilizzato del siero-innesto al 2% e per facilitare la coagulazione, dopo l'acidificazione, si aggiungono piccole quantità di caglio liquido di vitello. L'acidificazione del latte viene attuata per 2-5h a 22-30°C sino a circa

12 °SH. Una azienda non effettua l'acidificazione prima dell'aggiunta del caglio ed ottiene l'acidificazione mantenendo il latte a 37°C per 30 minuti fino a circa 8 °SH. In altri casi, dove si utilizza il siero-innesto, l'acidificazione avviene a 10°C per 12h.

- Coagulazione: per la coagulazione lattica il tempo di coagulazione è nettamente superiore rispetto a quella presamica e dura infatti 8-12h sino a 24h ad una temperatura di 20-24°C.
- Formatura e spurgo: eliminato il siero, la cagliata viene estratta con teli di lino o di tessuto sintetico. Lo spurgo viene attuato sia in fascera che in tela. Appena possibile si esegue un rivoltamento e si lasciano sgrondare i formaggi per almeno 3-5 ore.
- Salatura: salatura a secco per 12-24 h a 20°C.
- Asciugatura: questa fase viene attuata per 2-7 giorni mantenendo il formaggio a 15-18°C e 68-70% di UR.
- Stagionatura: in frigo a 4°C, UR 85-90%, sino a 10-30 giorni massimo.

Caratteristiche sensoriali

- Pasta: bianca, fresca, morbida, adesiva, friabile
- Sapore: acidulo
- Odore: tipico, fresco caprino
- Aroma: di burro, leggermente acidulo

L'esame dei rilievi tecnologici ha evidenziato che ad eccezione della Robiola di Roccaverano DOP e del Murazzano DOP la cui produzione è soggetta ad un Disciplinare in tutti gli altri casi vi è una spiccata variabilità a livello aziendale nelle tecniche di caseificazione applicate. L'attuale tipizzazione è quindi ascrivibile più all'areale di produzione che ad una reale caratterizzazione produttiva e solo la definizione e l'applicazione di futuri Disciplinari di produzione consentirà di ottenere una "standardizzazione" produttiva e quindi una riconoscibilità anche commerciale dei prodotti.



Figura 3



Figura 4

Dal punto di vista compositivo le analisi hanno riguardato i macro-componenti (sostanza secca, proteine, grassi, cloruro di sodio, azoto solubile, pH), il profilo acidico ed alcuni componenti minori (acidi organici, zuccheri, diacetile ed acetoino) rilevabili mediante cromatografia liquida.

Anche in questo caso si è potuta evidenziare una spiccata variabilità compositiva ascrivibile alla artigianalità delle produzioni. Molto variabili risultano ovviamente l'umidità connessa ai differenti periodi di stagionatura e che in alcuni casi presenta variazioni superiori al 20% ed il contenuto in grasso in relazione alla minore o maggiore scrematura del prodotto.

Altri parametri che presentano una spiccata variabilità non solo all'interno delle varie tipologie ma anche e soprattutto fra le tipologie sono il contenuto in azoto solubile ed il pH. Il primo è ovviamente influenzato dal grado di stagionatura del prodotto e risulta quindi particolarmente elevato nel Cevrin di Coazze e nei caprini Valsesiano e del VCO. Valori particolarmente contenuti si hanno invece per i formaggi a minore stagionatura come i lattici od il Murazzano DOP. Nel caso del pH le differenze fra i prodotti sono ascrivibili alla diversa modalità di caseificazione. I valori più bassi si hanno quindi per il caprino lattico e per la Robiola di Roccaverano DOP mentre caprino Valsesiano e Cevrin di Coazze presentano i valori più elevati.

Il contenuto di acidi grassi in un formaggio è strettamente correlato alla tipologia di latte utilizzato nonché all'alimentazione dell'animale e questo fa sì vi siano anche per questo parametro significative differenze fra le tipologie di prodotti esaminati così come una elevata variabilità a carico di ciascuna tipologia.

Nel caso delle frazioni caseiniche si è potuto evidenziare che tutte le caseine considerate presentano valori significativamente differenti fra le diverse tipologie di prodotti con la conseguente possibilità di un loro utilizzo per la caratterizzazione degli stessi. La caseina β si trasforma in γ caseine e questa trasformazione è particolarmente evidente per i formaggi a maggiore stagionatura quali i caprini del VCO od il Cevrin di Coazze. Maggiori quantità di caseina β si rilevano nei formaggi a breve stagionatura quali Roccaverano o Murazzano. Le γ caseine sono in genere presenti in quantità simile nelle sette tipologie di prodotti benché nel Murazzano risulti assente la γ_2 e nel presamico la γ_3 . Poiché si tratta di valori medi rimane da comprendere quale sia la motivazione tecnologica che determina questa particolare situazione.

Per quanto concerne le αs_1 caseine anche in questo caso le differenze sono principalmente ascrivibili alla diversa stagionatura e quindi il Murazzano ed il Roccaverano presentano ovviamente i valori più elevati.

Situazione analoga per l' αs_1 (102-199) che risulta assente nel Cevrin e raggiunge i massimi valori nuovamente nel Murazzano e nel Roccaverano.

Fra i componenti minori l'acido citrico, metabolizzato dai batteri lattici, risulta presente in particolare nei formaggi a breve stagionatura quali il lattico o la Robiola di Roccaverano mentre nel Cevrin è quasi assente. La concen-

trazione di acido lattico invece è influenzata dalla fermentazione lattica che può avvenire sia durante la fase di acidificazione della cagliata che durante la stagionatura. Ne deriva che si possono avere elevate concentrazioni per i formaggi a coagulazione lattica prevalente, ma anche per i formaggi a coagulazione presamica con stagionatura medio-lunga.

Gli acidi correlati ai fenomeni lipolitici quali butirrico, valerico etc. risultano ovviamente particolarmente abbondanti in quei formaggi dove questo processo è particolarmente intenso a causa della stagionatura più prolungata. Al contrario nel caso degli zuccheri la loro presenza è limitata ai casi in cui si ha una stagionatura particolarmente breve ed insufficiente a provocarne la metabolizzazione.

La seconda fase dello studio, infine, ha visto la redazione delle proposte di Disciplinari di produzione e dei relativi piani di controllo per tutti i formaggi esaminati fatti salvi i due già in possesso della registrazione DOP. Detti Disciplinari sono stati stilati sulla base dei risultati ottenuti dai rilievi tecnologici effettuati presso i produttori di ciascuna categoria e la loro funzionalità è stata verificata presso almeno due delle realtà produttive interessate. Benchè questi documenti rappresentino puramente una proposta in quanto non sono stati concertati con le aziende di produzione, costituiscono tuttavia le basi di partenza per la stesura dei futuri Disciplinari di Produzione in relazione alla richiesta della DOP.

I risultati completi della ricerca sono stati sintetizzati in una pubblicazione scaricabile, a partire da settembre 2012, accedendo al motore di ricerca "Banca dati della ricerca agricola regionale" del portale web Agricoltura della Regione Piemonte

(<http://www.regione.piemonte.it/cgi-bin/agri/agripqr/ricerche.cgi> | Titolo del progetto: OVINCAPRA).

■ Conclusioni

Lo studio ha consentito di raccogliere, per la prima volta, informazioni di tipo tecnologico e compositivo sui formaggi ovi-caprini piemontesi che costituiscono una significativa realtà produttiva nel panorama lattiero-caseario regionale. I risultati ottenuti oltre a confermarne l'importanza economica e la diffusione sul territorio piemontese ne hanno evidenziato altresì la principale criticità costituita dalla spiccata variabilità nelle tecnologie produttive utilizzate. Se si escludono infatti la Robiola di Roccaverano DOP ed il Murazzano DOP in tutti gli altri casi la variabilità aziendale nelle tecniche di caseificazione applicate determina una altrettanto spiccata variabilità compositiva e sensoriale che ne limita la identificabilità sul mercato.



Figura 5



Figura 6

La possibilità di unire i produttori dei formaggi PAT oggetto del lavoro in associazione e l'applicazione dei Disciplinari di produzione la cui struttura è stata definita per ciascuno dei formaggi studiati consentirà di ridurre la variabilità del prodotto ottenendo una "standardizzazione" produttiva e quindi una maggiore riconoscibilità anche commerciale dei prodotti. Essendo quasi esclusivamente produzioni legate a piccole realtà produttive di azienda agricola, questo studio può essere l'inizio di un lavoro di gruppo che non vuole uniformare le produzioni casearie ma renderle più simili in modo da avere più peso commerciale sull'acquirente e più possibilità di valorizzazione da parte degli enti del territorio.

Isolamento e caratterizzazione delle popolazioni microbiche autoctone da formaggio Castelmagno DOP e Raschera DOP ai fini della predisposizione di starter per la caseificazione

■ Introduzione

L'industria lattiero-casearia piemontese ha ormai raggiunto, grazie agli interventi mirati degli Enti di controllo ed ai numerosi interventi strutturali, la sicurezza igienico-sanitaria per tutte le sue produzioni, anche per quelle con maggiori problematiche quali quelle di alpeggio.

Attualmente si sta così aprendo un nuovo fronte, complesso ed ampio almeno quanto quello della sicurezza: quello della qualità totale, intesa come l'insieme delle caratteristiche positive sia a livello organolettico-reologico-compositivo che nutrizionale. Le aziende agricole auspicano infatti di poter ottenere prodotti meno difettosi e più omogenei così da poter interessare la GDO, mentre i caseifici auspicano prodotti più 'tipici' e meno 'standardizzati'.

È evidente che per entrambe le problematiche l'unica soluzione possibile sia quella dell'utilizzo di colture starter autoctone, le sole in grado di garantire prodotti standardizzati pur nella variabilità di areale e prodotti maggiormente caratterizzati e differenziati pur con l'utilizzo di latti pastorizzati.

Si tratta di una soluzione già ampiamente utilizzata e con ottimi risultati in alcune produzioni italiane e da più parti richiesta anche per le produzioni piemontesi (ad es. Toma Piemontese).

Si tratta peraltro dell'unica soluzione possibile in quanto le particolari tecnologie di alcune produzioni impediscono di fatto un intervento tecnologico correttivo. Non potendo quindi modificare in modo significativo la tecnologia produttiva l'unica via possibile per il miglioramento qualitativo del prodotto resta la sostituzione della microflora presente con colture microbiche selezionate che garantiscano la standardizzazione produttiva pur mantenendo la tipicità del prodotto.

Tra i microrganismi di interesse tecnologico utilizzabili nella formulazione di starter un ruolo di primo piano è assunto, nel settore lattiero-caseario, dai batteri lattici che risultano essere determinanti nell'acidificazione del

Roberto Arru
*Associazione Regionale
Produttori Latte Piemonte*

Giuseppe Zeppa
Paola Dolci
Valentina Alessandria
Marta Bertolino
Manuela Giordano
Kalliopi Rantsiou
Luca Simone Cocolin
Luca Rolle
*Università di Torino - Dipartimento
di Valorizzazione e Protezione
delle Risorse agroforestali -
Settore di Microbiologia agraria
e Tecnologie alimentari*

Jean Daniel Coisson
Fabiano Travaglia
Marco Arlorio
*Università del Piemonte Orientale
"A. Avogadro" - Dipartimento di Scienze
Chimiche, Alimentari, Farmaceutiche
e Farmacologiche*

Guido Tallone
*Agenform-Consorzio -
Istituto Lattiero-Caseario
e delle Tecnologie Agroalimentari*

Alessandra Dalmasso
Tiziana Civera
*Università di Torino -
Dipartimento di Patologia Animale -
Settore Ispezione degli alimenti
di origine animale*

prodotto, contribuendo alla selezione della microflora spontanea, ma anche nella formazione di composti aromatici e nella proteolisi. Nello specifico la caratterizzazione della microflora lattica autoctona permette di acquisire una conoscenza più approfondita relativa ai fenomeni di proteolisi che si verificano durante la stagionatura dei formaggi, in particolare la produzione di sapori sgradevoli dati dalla formazione di peptidi "amari", il tutto con conseguente miglioramento dei caratteri organolettici del prodotto finale. Gli obiettivi che il progetto si è prefisso di raggiungere sono stati quindi i seguenti:

- Isolare e caratterizzare genotipicamente e fenotipicamente i batteri lattici presenti nell'areale produttivo di due importanti formaggi tipici piemontesi, con la finalità di creare una apposita ceppoteca regionale della biodiversità salvaguardando quindi dall'estinzione le microflоре autoctone presenti.
- Predisporre delle colture starter da fornire ai produttori e da utilizzare nelle produzioni da latte crudo e da latte pastorizzato.
- Caratterizzare i batteri lattici isolati sia dal punto di vista genotipico, al fine di poter attuare il successivo controllo di qualità di produzione e l'attività ispettiva degli organismi preposti - consorzi - nel caso dovessero essere modificati i disciplinari di produzione, sia dal punto di vista chimico-nutrizionale, in relazione alle loro proprietà decarbossilanti ed alla loro azione nei fenomeni proteolitici come pure nella maturazione dei formaggi.

I formaggi oggetto della ricerca sono stati il Castelmagno DOP e il Raschera DOP. Per quel che riguarda il primo dei due, a ricerca in via di conclusione è stata pubblicata una domanda di modifica del disciplinare in cui, tra le altre cose, si vieta l'utilizzazione di fermenti (Gazzetta Ufficiale dell'Unione Europea C320/14 del 24.12.2009). Tale modifica, quando sarà registrata, renderà impossibile l'utilizzazione dei microrganismi individuati nel corso dello studio. Riteniamo, tuttavia che tale aspetto non infici minimamente l'interesse e l'utilità dei risultati che vengono presentati in questo articolo in termini sia di aumento delle conoscenze, sia di salvaguardia della diversità del mondo microbico anche in vista di futuri e, per ora non immaginabili, utilizzi.

■ Castelmagno

Il progetto si è articolato in tre fasi di lavoro. Nella prima è stata esaminata la microflora caratterizzante di latti, cagliate e formaggi a dopo salatura ed a 30 e 60 giorni di stagionatura.



Figura 1

Tipico locale di stagionatura del
Castelmagno DOP.

Per lo studio di questi batteri sono stati utilizzati anche metodi molecolari con le tecniche *RSA 16S-23S (rRNA gene spacer analysis)*, *PCR specie-specifiche* e *DGGE (Denaturing Gradient Gel Electrophoresis)* al fine di identificare geneticamente le specie presenti.

È stato possibile osservare un aumento di carica della microflora lattica fino al momento della salatura. Nel latte infatti erano presenti 10^5 - 10^6 cfu/mL che hanno raggiunto valori di 10^9 cfu/g nella cagliata dopo tre giorni di sosta sotto siero per poi iniziare un lento ma inesorabile decremento, ascrivibile a fenomeni di autolisi e competizione, fino a valori di 10^6 cfu/g nel formaggio dopo 90 giorni di stagionatura.

L'andamento della carica della microflora lattica è risultata essere inversamente proporzionale a quello del pH che nelle prime fasi del processo produttivo presenta valori intorno alla neutralità per poi scendere a circa 4.7 nella cagliata dopo tre giorni di sosta sotto siero. Nelle ultime fasi del processo produttivo, quando la carica batterica decresce, i valori di pH subiscono nuovamente un lieve aumento fino a 5-5,1 dopo 90 giorni di stagionatura. Nei campioni di latte, di cagliata e di formaggio dopo tre giorni dalla salatura, è stata evidenziata la netta prevalenza di *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* (48,8-85,4%), responsabile della formazione di acido lattico e della conseguente diminuzione di pH.

Dagli stessi campioni sono stati isolati anche ceppi appartenenti alla sub-specie *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris*, anche se con percentuali mai superiori al 18,8%.

Con il progredire della stagionatura è stata osservata la scomparsa dei lattococchi e la presenza dei lattobacilli, in particolare di *Lactobacillus plantarum* e *Lactobacillus paracasei*, due specie non starter che contribuiscono all'aromatizzazione del prodotto stagionato. Nei campioni di Castelmagno DOP analizzati sono risultate presenti, rispettivamente, in un range tra il 3% e il 36% e tra l'11% e il 49%.

Lactobacillus delbrueckii subs. *lactis*, *Lactobacillus coryneformis* subs. *torquens* e *Lactobacillus casei* sono stati invece isolati occasionalmente e in basse percentuali. Per quanto riguarda invece gli enterococchi, presenti nel latte con una carica media di circa 10^4 cfu/mL, *Enterococcus faecium* e *Enterococcus faecalis* sono risultate le specie più frequentemente isolate sia nel latte che nella cagliata. Benché la loro presenza nelle fasi di produzione possa essere associata a scarse condizioni igieniche del latte, durante le fasi di stagionatura possono svolgere un'intensa attività lipolitica ed essere quindi considerati una componente importante della microflora lattica dal punto di vista dell'aromatizzazione grazie anche all'elevata tolleranza per le condizioni acide, all'alta salinità ed alle basse temperature caratteristiche dei processi di stagionatura in luoghi freddi. La loro carica risulta aumentare sino a 10^7 cfu/g nella cagliata dopo passaggio in siero per poi decrescere via via che procede la stagionatura sino a circa 10^6 cfu/g nel formaggio a 90 giorni di maturazione.

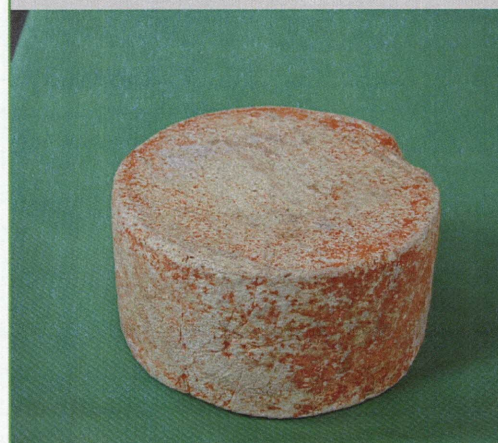


Figure 2-3-4

Forme di formaggio tipo Castelmagno prodotte con l'ausilio degli starter isolati nell'ambito del progetto.

La ricerca ha messo in evidenza inoltre che la microflora aerobica mesofila è presente nel latte crudo con valori di carica di 10^5 cfu/mL e raggiunge i massimi livelli nella cagliata dopo i tre giorni di sosta sotto siero con 10^9 cfu/g. Successivamente l'impastatura con sale che viene effettuata alla cagliata dopo essere stata tritata rallenta e inibisce parzialmente lo sviluppo della carica microbica aerobica mesofila che progressivamente decresce durante la stagionatura sino a valori di 10^6 cfu/g nel formaggio a 90 giorni.

Andamento analogo si osserva anche per i lieviti e le muffe presenti nel latte con una carica di circa 10^5 cfu/mL nel latte che diviene circa 10^8 cfu/g nella cagliata dopo salatura per poi decrescere sino a circa 10^3 cfu/g nel formaggio a 90 giorni di stagionatura.

Nella seconda parte dello studio, per ciascun campione di cagliata e formaggio sono stati quindi isolati 10-20 ceppi di batteri lattici e 3-5 ceppi di enterococchi sottoposti successivamente a purificazione ed identificazione genetica mediante l'analisi PCR della regione spaziatrice 16S-23S e mediante PCR specie-specifiche.

Nell'ambito dei circa 200 ceppi identificati sono stati scelti, per le analisi successive, alcuni rappresentanti delle specie più frequentemente isolate e precisamente 5 ceppi di *L. plantarum*, 5 di *L. paracasei*, 8 di *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* e 1 *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris*.

Questi ceppi sono stati quindi utilizzati come starter in microcaseificazioni effettuate con circa 200 mL di latte secondo un protocollo internazionale che consentivano di ottenere mini-formaggi di circa 20 g di peso che dopo 60 giorni di stagionatura sotto vuoto a 10 °C sono stati sottoposti ad analisi HPLC al fine di valutare l'eventuale produzione da parte di questi ceppi di amine biogene. I risultati ottenuti hanno evidenziato che tutti i ceppi erano in grado di produrre amine biogene benché quattro di essi non producessero Istamina ed altrettanti ne producessero quantità insignificanti e potevano essere quindi successivamente utilizzati nelle prove di messa a punto degli starter.

Parallelamente è stata intrapresa la ricerca di possibili fattori di virulenza nei ceppi appartenenti alle specie *E. faecium* ed *E. faecalis*, utilizzando primers disponibili in letteratura.

Nella terza ed ultima fase del progetto sono state effettuate presso il caseificio sperimentale dell'Istituto Lattiero-Caseario di Moretta cinque caseificazioni pilota, utilizzando alcuni dei ceppi di *L. lactis* subs. *lactis* precedentemente isolati e caratterizzati.

Il processo di caseificazione seguito è stato analogo a quello utilizzato per la produzione di Castelmagno DOP con un riposo sotto siero di 3 giorni. Dopo oltre 100 giorni di stagionatura i formaggi sono stati esaminati da

un gruppo formato da tecnici e produttori evidenziando come quattro dei ceppi utilizzati abbiano dato origine a prodotti gradevoli e comunque con caratteristiche sensoriali e strutturali assimilabili a quelle del Castelmagno DOP.

Benchè la richiesta di modifica impedisca al momento l'utilizzo di questi starter lo studio ha permesso di definire per la prima volta in modo esaustivo la microflora del Castelmagno e la sua evoluzione nel corso della produzione e stagionatura il che consentirà un migliore controllo del processo produttivo.

Parallelamente a questa sperimentazione è stata intrapresa, come da progetto, anche la ricerca di possibili fattori di virulenza in ceppi appartenenti alle specie *Enterococcus faecium* ed *Enterococcus faecalis*.

In particolare lo studio è stato condotto su 67 ceppi di *E. faecalis* e *E. faecium*, isolati da formaggio Castelmagno sui quali sono stati ricercati mediante metodiche biomolecolari i seguenti fattori di virulenza:

- *Agg*: proteina di aggregazione, coinvolta nell'aderenza alle cellule eucariote;
- *GelE*: tossina idrolizzante gelatina, collagene, emoglobina ed altri composti;
- *CylM*, *CylB*, *CylA*: geni coinvolti nella produzione, attivazione e trasporto di una citolisina ad attività emolitica;
- *Esp*: proteina associata alla parete cellulare coinvolta nell'evasione immunitaria;
- *EfaAfs*, *EfaAFm*: adesine favorevoli l'aderenza alle cellule eucariote;
- *Cob*, *Cpd*, *Ccf*: feromoni, chemiotattici per i leucociti;
- *Van A*: fattore di resistenza alla vancomicina ed alla teicoplanina;
- *Van B*: fattore di resistenza alla vancomicina;
- *THDC*: gene della tirosina decarbossilasi responsabile della produzione di tiramina.

I risultati ottenuti dalla sperimentazione hanno evidenziato la capacità per i ceppi esaminati di produrre fattori responsabili di patogenicità nell'uomo quali *Ccf*, gene codificante feromoni e chemiotattici per i leucociti (80.6%), *EfaAfs* un gene codificante per adesine favorevoli l'aderenza alle cellule eucariote (59.7%) e *Esp* proteina associata alla parete cellulare coinvolta nell'evasione immunitaria (41,8%).

Molto elevata è anche la percentuale di enterococchi isolati che possiede il gene codificante per la produzione di tiramina (56,7%). Nessun gene è risultato positivo per i principali geni codificanti la resistenza alla vancomicina A e B, indicando un impiego limitato pertanto di questi antibiotici sul territorio.

Un unico ceppo di *E. faecalis* è risultato positivo per tutti i geni testati, ad esclusione della resistenza alle vancomicine mentre 3 ceppi sono risultati negativi per tutti i fattori di virulenza e 3 positivi per il solo gene TDH.

■ Raschera

Come già per il Castelmagno, anche per il Raschera il progetto si è sviluppato in tre fasi successive. Nella prima si è proceduto all'isolamento della microflora lattica e degli enterococchi presenti in una ventina di campioni di cagliata e di formaggi a varia stagionatura provenienti da caseifici ed alpeggi dall'area di produzione del Raschera e presso i quali non erano mai stati utilizzati starter.

Per ciascun campione sono stati isolati circa 10-15 ceppi di batteri lattici e 3-5 ceppi di enterococchi per un totale di 283 ceppi che sono stati sottoposti a purificazione mediante due passaggi in piastra secondo il metodo degli strisci successivi.

Tutti i ceppi così isolati sono stati quindi sottoposti ad identificazione genetica mediante l'uso di tecniche molecolari quali l'analisi della regione spaziatrice 16S-23S dei geni dell'rRNA, PCR specie-specifiche e Denaturing gradient gel electrophoresis (DGGE).

In particolare i ceppi lattici isolati sono stati raggruppati sulla base dei profili RSA che hanno presentato e sono stati identificati mediante PCR specie-specifiche. I ceppi che non hanno mostrato dei profili RSA chiari sono stati identificati mediante PCR-DGGE e sequenziamento del gene dell'rRNA 16S.

I risultati ottenuti hanno evidenziato la predominanza della specie *L. lactis* subsp. *lactis* nei campioni sia di cagliata che di formaggio stagionato con percentuali che variano dal 55% al 70% sul totale degli isolati. È chiaro quindi il ruolo predominante di questo lattococco sia come *starter* nel processo di fermentazione lattica sia nella fase di stagionatura del prodotto.

Nei campioni di formaggio con 30 e 75 giorni di stagionatura sono stati isolati inoltre lattobacilli appartenenti alle specie *L. paracasei* e *L. plantarum*. Queste specie, presenti con frequenze di isolamento inferiori rispetto ai lattococchi, fanno parte di quella "microflora secondaria" *non starter* che interviene nel processo di stagionatura dei formaggi conferendo aromi e sapori tipici ai prodotti.

Gli enterococchi, in particolare le specie *E. faecalis*, *E. faecium* ed occasionalmente *E. casseliflavus*, sono risultati presenti durante tutto il processo di produzione e stagionatura del Raschera DOP. Nonostante la loro presenza nel settore lattiero-caseario sia spesso associata a scarse condizioni igieniche, il loro isolamento è stato correlato da diversi autori ad una intensa azione lipolitica e quindi alla formazione di composti aromatici che contribuiscono a caratterizzare il prodotto.

In minime percentuali infine sono stati isolati ceppi appartenenti alle seguenti specie: *Streptococcus infantarius* subsp. *infantarius*, *Vagococcus carniphilus*, *Leuconostoc pseudomesenteroides*, *Lactococcus garvieae*.

Figura 3

Forme di formaggio tipo Raschera ottenute con l'ausilio degli starter isolati nell'ambito del progetto.

Nell'ambito dei 283 ceppi identificati sono stati scelti, per le fasi successive del progetto, alcuni rappresentanti delle specie più frequentemente isolate e precisamente 4 ceppi di *L. paracasei* e 16 di *L. lactis* subsp. *lactis*.

Nella seconda fase del progetto questi ceppi sono stati quindi utilizzati quali starter in microcaseificazioni al fine di definirne sia le attività acidificanti sia la produzione di amine biogene. I risultati ottenuti hanno evidenziato per 12 di questi ceppi una ridotta produzione di amine biogene unita ad una altrettanto contenuta attività acidificante e quindi la possibilità di un loro utilizzo quali starter nella produzione del Raschera.

Al fine di verificare dette potenzialità, nella terza fase del progetto, detti ceppi sono stati utilizzati sotto forma di lattocoltura in una serie di caseificazioni sia su scala pilota presso il caseificio sperimentale dell'Istituto Lattiero-Caseario di Moretta sia industriale presso il caseificio Cooperativo di Frabosa Soprana (CN). I risultati ottenuti dalle valutazioni compositive e soprattutto sensoriali effettuate a 30 e 60 giorni di stagionatura hanno evidenziato che due ceppi, il BF2 in purezza ed il FaF32 in miscela con il BF2 (20:80) possono fornire formaggi di ottima qualità, molto gradevoli con caratteristiche sensoriali e strutturali assimilabili a quelle del Raschera DOP. Similmente a quanto fatto per il Castelmagno, anche nel caso del Raschera, parallelamente all'isolamento ed alla caratterizzazione di ceppi di batteri lattici da utilizzarsi quali starter, è stata intrapresa la ricerca di possibili fattori di virulenza in ceppi appartenenti alle specie *E. faecium* ed *E. faecalis*.

È interessante notare che tutti i ceppi isolati da Raschera ed identificati come *E. faecalis* presentano almeno 3 o più fattori di virulenza.

In particolare il gene maggiormente riscontrato è stato il *Ccf*, coinvolto nella produzione di feromoni e chemiotattici per i leucociti. Al contrario, i geni codificanti per la citolosina (*CylM*, *CylB*, *CylA*) ed il fattore di aggregazione (*Agg*) risultano assenti in tutti i ceppi testati indipendentemente dalla specie. Molto elevata è risultata anche la percentuale di enterococchi isolati che possiede il gene codificante per la produzione di tiramina. Nessun ceppo è risultato invece positivo per i principali geni codificanti la resistenza alla vancomicina A e B il che indica un impiego limitato di questo antibiotico sul territorio. Relativamente alla ricerca dei geni coinvolti nella resistenza alla tetraciclina, è stato possibile valutare la corretta correlazione tra il fenotipo e il genotipo. Ceppi fenotipicamente resistenti a tale antibiotico possiedono infatti almeno uno dei quattro geni responsabili della resistenza. Al contrario, ceppi fenotipicamente sensibili non presentano nessuno di questi geni. I ceppi testati hanno confermato i dati presenti in bibliografia, dimostrando un'elevata resistenza intrinseca agli aminoglicosidi [kanamicina, streptomycin, neomicina], ai macrolidi [eritromicina] ed ai chinoloni come l'acido nalidixico.

Bibliografia

- Bertolino M., Gerbi V., Zeppa G. (2008). Proteolysis Characterisation of Castelmagno PDO cheese. *5° IDF Symposium on Cheese Ripening, Bern (CH), 9-13 March, 103*
- Dolci P., Alessandria V., Rantsiou K., Rolle L., Zeppa G., Cocolin L. (2008). Microbial dynamics of Castelmagno PDO, a traditional Italian cheese, with a focus on lactic acid bacteria ecology. *Int. J. Food Microb., 122, 302-311*
- Dolci P., Alessandria V., Zeppa G., Rantsiou K., Cocolin L. (2008). Microbiological characterization of artisanal Raschera PDO cheese: analysis of its indigenous lactic acid bacteria. *Food Microb., 25, 392-399*
- Giordano M., Bertolino M., Dolci P., Zeppa G. (2008). Studio dei composti volatili prodotti da batteri lattici autoctoni in lattoinnesti. *Atti 8° Congresso Italiano di Scienza e Tecnologia degli Alimenti, Rho (MI), 7-8 Maggio 2007, 104-108*
- Alessandria V., Dolci P., Zeppa G. (2008). La microflora autoctona del Castelmagno DOP. *Caseus, 13, 2, 36-39*
- Dolci P., Alessandria V., Rantsiou K., Zeppa G., Cocolin L. (2008). Studio della microflora lattica del formaggio Castelmagno DOP con metodi coltura-dipendenti e coltura-indipendenti. *In Ricerche e innovazioni nell'industria alimentare, Vol. 8. Atti 8° Congresso Italiano di Scienza e Tecnologia degli Alimenti, Rho (MI), 7-8 Maggio 2007, a cura di S. Porretta, pp. 301-305 Chiriotti Editori, Pinerolo (TO), ISBN 13:978-88-96027-00-4. CD-R*
- Bertolino M., Giordano M., Rolle L., Zeppa G. (2009). Study of ripening on Castelmagno PDO cheese produced in Piedmont mountains. *9th International Meeting on Mountain Cheeses, Sainte-Eulalie, 14-15 September 2009*

Incidenza e livello di contaminazione da *Listeria monocytogenes* negli insilati aziendali e ripercussioni sulle produzioni lattiero casearie nella filiera del Gorgonzola DOP (LISTGO)

Listeria monocytogenes è una delle sei specie appartenenti al genere *Listeria* ed è caratterizzata dalla capacità di essere patogena per l'uomo. *L. monocytogenes* grazie alla sua caratteristica ubiquitarità è presente in diversi ambienti quali l'acqua, gli insilati, la sostanza organica in decomposizione, il suolo e le feci (Hassan *et al.*, 2001). Particolare importanza rivestono, come reservoir di tale microrganismo, il terreno, il foraggio e l'acqua. L'ubiquità associata alla capacità di resistere a condizioni avverse, quali basse temperature, alte concentrazioni saline e ad un ampio range di pH (Low and Donachie, 1997) hanno contribuito ad estendere l'attenzione del legislatore europeo nei suoi confronti, a partire dalla produzione primaria, soprattutto per l'importanza che assumono la prevenzione ed il controllo di *Listeria* in una filiera particolarmente importante e delicata, quale la filiera latte (Fox *et al.*, 2009). Una delle principali fonti di infezione per i ruminanti sembrano essere gli insilati deteriorati, benché la contaminazione possa anche arrivare dall'acqua o da altri alimenti contaminati da vettori quali uccelli o insetti (Low and Donachie, 1997). Tra le numerose produzioni casearie della Regione Piemonte, il Gorgonzola DOP sembra essere un prodotto particolarmente esposto al rischio di contaminazione da parte di *L. monocytogenes*. Al fine di migliorare la sicurezza alimentare della filiera del Gorgonzola DOP è stato attivato un progetto finanziato dalla Regione Piemonte con l'obiettivo di verificare la presenza di anelli deboli nella filiera, a partire proprio dalla produzione primaria. Il Gorgonzola DOP viene prodotto in Piemonte e Lombardia da circa 40 caseifici, a cui conferiscono oltre 1000 aziende agricole dislocate nel territorio consortile, che forniscono il latte destinato alla produzione, con una produzione totale annua di 480.000 quintali di prodotto (circa 4 milioni di forme) (<http://www.gorgonzola.it/produzione.asp>).

Il progetto LISTGO ha studiato l'intera filiera produttiva del Gorgonzola DOP in un caseificio della provincia di Novara e nelle aziende zootecniche conferenti ed ha perseguito l'obiettivo di comprendere i legami tra l'ambiente

Giorgio Borreani
Piero Michele Meda
Ernesto Tabacco
*Dipartimento di Agronomia,
Selvicoltura e Gestione del Territorio -
Università degli Studi di Torino*

Daniele Nucera
Patrizia Morra
Ausilia Grassi
*Dipartimento di Patologia Animale -
Università degli Studi di Torino*

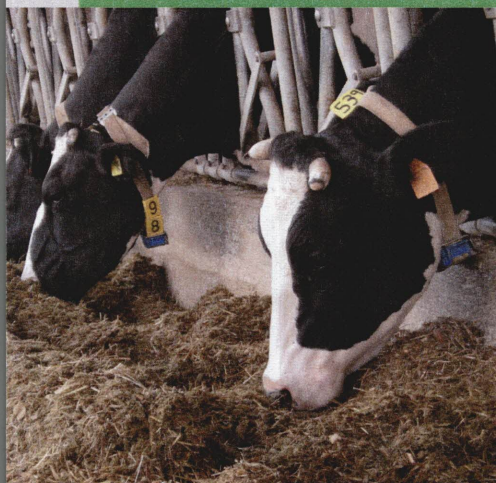


Figura 1

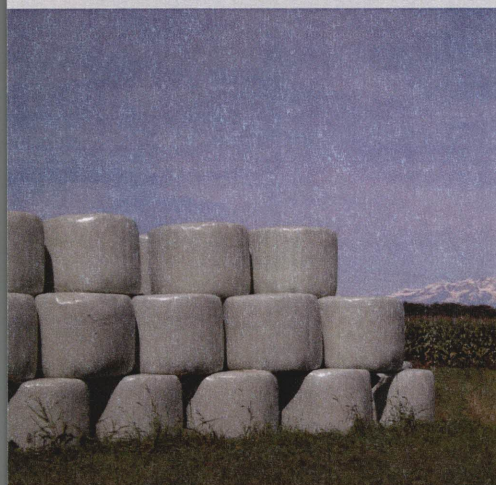


Figura 2

azienda zootecnica ed il caseificio, al fine di mettere in atto soluzioni per il contenimento della contaminazione da *Listeria* attraverso una serie di strategie:

- analisi aziendale per la definizione delle situazioni a rischio e dei principali fattori che possono determinare la presenza di *L. monocytogenes* nei foraggi conservati mediante insilamento;
- definizione delle soluzioni tecniche da adottare per il miglioramento della qualità di conservazione delle rotoballe fasciate e valorizzazione della tecnica per l'ottenimento di foraggi ad elevato valore nutrizionale e microbiologico;
- individuazione di eventuali contaminazioni da *Listeria* del latte aziendale e definizione del ruolo dell'ambiente stalla e dell'alimentazione sulla propagazione e mantenimento di questo microrganismo;
- individuazione delle strategie aziendali da adottare in presenza di contaminazione degli alimenti al fine di evitare l'inquinamento dell'intera filiera;
- caratterizzazione dei ceppi di *L. monocytogenes* isolati da insilati, allevamento e caseificio, mediante caratterizzazione genotipica (Rep-PCR).

■ Campionamento e risultati della ricerca

Le attività condotte hanno previsto l'analisi approfondita dell'organizzazione aziendale delle aziende conferenti. Il lavoro ha previsto la valutazione nell'arco dei tre anni degli insilati aziendali, sia in rotoballe fasciate sia in trincea (silomais e silosorgo). Gli insilati sono stati argomento di approfondimento in quanto considerati dalla letteratura scientifica internazionale particolarmente a rischio per la contaminazione da *Listeria*. Si è provveduto a monitorare lo stato di conservazione delle rotoballe fasciate (Figura 2) attraverso la determinazione della presenza di muffe visibili sulla superficie in relazione al numero di strati di film plastico, alla lunghezza del periodo di stoccaggio, alla presenza di fori sulla copertura e alle modalità di conservazione delle rotoballe. Si è provveduto inoltre a valutare gli insilati di mais in differenti zone del fronte di taglio, con particolare attenzione alle aree deteriorate. In ogni azienda sono stati inoltre prelevati campioni di unifeed somministrato agli animali in produzione, campioni di feci e campioni di latte di massa.

Le analisi microbiologiche eseguite sui campioni prelevati hanno permesso di ottenere i seguenti risultati: *Listeria* spp. è stata isolata da 46 dei 272 campioni di insilato analizzati (17%), mentre *L. monocytogenes* in 9 (pari al 3%), confermando una minor prevalenza nell'ambiente di questa specie rispetto alle altre non patogene. I risultati del sequenziamento hanno evidenziato una

presenza diffusa di *L. innocua*, mentre basse sono state le positività ad altre specie non patogene, quali *L. seeligeri*. In Tabella 1 sono riportati i contenuti di *Listeria* spp. in relazione alle tipologie di foraggi insilati nelle aree ben conservate dei sili e in quelle deteriorate, con sviluppo evidente di muffe. È interessante osservare come batteri del genere *Listeria* siano presenti fino al 16% nei campioni ben conservati, mentre l'incidenza aumenta visibilmente nei campioni deteriorati con frequenze dal 57 all'80% dei campioni analizzati.

Insilato	Coltura	Zona	s.s. (%)	pH	a _w	Lieviti	Muffe	<i>Listeria</i> spp.	
						(log UFC g ⁻¹)*		(% positivi)	(MPN g ⁻¹)
Rotoballe	Loglio italico	SANA	55,7	5,60	0,92	3,28	1,69	8	0,4
		DET	45,4	6,81	0,96	6,49	5,23	80	>110
	Erba medica	SANA	50,1	5,36	0,95	2,60	2,68	13	>110
		DET	41,5	5,82	0,97	4,35	4,37	57	>110
	Prato stabile	SANA	56,1	5,71	0,92	3,28	2,84	16	9
		DET	50,5	6,07	0,94	5,02	4,11	82	>1100
Trincea	Silomais	SANA	33,3	3,69	0,98	1,90	0,98	16	<0,3
		DET	27,1	5,97	0,99	5,44	5,46	62	>1100
	Silosorgo	SANA	22,4	4,29	1,00	<1,00	2,14	0	<0,3
		DET	20,6	5,85	1,00	7,60	8,02	100	>1100

* MPN = Most Probable Number; UFC = Unità Formanti Colonia.

Tabella 1

Insilati in trincea e in rotoballe fasciate: conteggio di lieviti, muffe e *Listeria* spp. (% campioni positivi e valore più alto osservato) in relazione al foraggio e alla zona di prelievo (campionamento in zone visibilmente deteriorate con muffe (DET) e zone sane (SANA) (n = 272).

Tra le altre tipologie di campioni prelevati in azienda *Listeria* spp. è stata isolata da 26 dei 40 campioni di feci prelevati (pari al 65%), mentre *L. monocytogenes* è risultata presente in 9 campioni (22%).

L'analisi dei risultati del latte conferito al caseificio, evidenzia che, nonostante le elevate positività degli alimenti insilati e delle feci, il latte di massa che giunge al caseificio, non risulta essere frequentemente contaminato. Dai 100 campioni di latte di massa aziendali analizzati, *L. monocytogenes* è stata isolata una sola volta, mentre in 9 campioni è stata riscontrata la presenza di *Listeria* spp. I prelievi eseguiti nei differenti locali del caseificio, hanno permesso di evidenziare la presenza di *Listeria* su diverse superfici campionate: le frequenze di isolamento sono risultate basse nei locali e sulle attrezzature destinate alla caseificazione, spurgo e salatura (9% sul totale dei prelievi). Al contrario, si sono rilevate frequenze più elevate nei locali destinati alla stagionatura, sia negli ambienti che sulle attrezzature utilizzate per la salatura e per la foratura delle forme (30%).

La frequenza di isolamento di *L. innocua* è risultata superiore a quella di *L. monocytogenes* (62% vs. 38%), a conferma della maggior presenza di tale specie a livello ambientale. Di particolare interesse la sovrapposibilità delle frequenze di isolamento nelle diverse visite indice della probabile presenza di ceppi verosimilmente adattatisi agli ambienti di lavorazione e pertanto persistenti. Infatti,