

Studio delle Popolazioni di Batteri Lattici Associate alla Mozzarella Prodotta nell'Agro Pontino: Indagine Preliminare

Lactic Acid Bacteria Populations in Mozzarella Cheese Produced in Agro Pontino Area: a Preliminary Study

Carlo Perla¹, Noemi Battistelli², Nunzio Lobefaro¹, Giorgia Perpetuini¹, Antonio Spinosi¹, Claudio Mazzoni¹, Aldo Corsetti², Rosanna Tofalo²

¹Dalton Biotecnologie S.R.L. Via Italia 87, 65010 Spoltore (PE) – Italia info@dalton.it

²Università degli Studi di Teramo, Facoltà di Bioscienze e Tecnologie Agro-Alimentari e Ambientali, Via R. Balzarini 1, 64100 Teramo, Italia



INTRODUZIONE

La mozzarella è un formaggio fresco italiano a pasta filata; le popolazioni microbiche principali presenti nel latte utilizzato sono rappresentate da streptococchi termofili e mesofili, da lattobacilli termofili, enterococchi e lieviti. Le caratteristiche peculiari del prodotto sono largamente influenzate dal latte, dalla tecnologia di produzione e dall'ambiente. Il caratteristico profilo aromatico dipende strettamente dalla complessità dei composti volatili presenti, soprattutto esteri, risultanti dalle attività delle popolazioni e/o associazioni microbiche coinvolte nel processo di produzione. L'obiettivo di questo lavoro si inserisce in un progetto che ha lo scopo principale di preservare la biodiversità microbica e individuare microrganismi peculiari (e riconoscibili) dei prodotti lattiero-caseari dell'area di produzione dell'Agro Pontino.

MATERIALI E METODI

Origine dei ceppi

Lo studio ha riguardato il microbiota lattico di 11 aziende dell'area dell'Agro Pontino. I principali gruppi microbici sono stati ricercati mediante i seguenti substrati: coliformi ed *Enterobacteriaceae* mediante Violet Red Bile Agar (VRBA) (Liofilchem, Italia) a 37 °C per 24 ore; enterococchi mediante Kanamycin Aesculin Azide Agar Base (KAA) (Biolife, Italia) a 37 °C 48 ore; batteri aerobi Gram⁻ mediante Sugar Free Agar Base (SF) a 30 °C per 72 ore e lattococchi termofili mediante M17 agar (Liofilchem, Italia) a 37 °C 18-24 ore.

Dalle piastre contabili sono state isolate dieci colonie e sono stati effettuati due passaggi di purificazione. I ceppi, dopo osservazione microscopica, colorazione di Gram e test della catalase, sono stati conservati a -20°C utilizzando come crioprotettivo glicerolo (25% v/v). I ceppi fanno parte della collezione Dalton Biotecnologie S.R.L.

Identificazione e tipizzazione

Il DNA è stato estratto con InstaGene matrix (Bio-Rad, Milano, Italia). L'identificazione è stata effettuata mediante 16S rRNA in accordo con Bringel et al. (2005). La tipizzazione è stata effettuata mediante RAPD-PCR con l'impiego del primer M13 in accordo con Tofalo et al. (2009).

Caratterizzazione tecnologica

Per i ceppi apparentemente appartenenti alla specie *Streptococcus thermophilus* è stata valutata la capacità acidificante.

Azienda	Comune	N. capi di mungitura	Razza (%)				Alimentazione
			Frisona	Brune	Jersey	Pezzata rossa	
1	Terracina (LT)	270	75	13	12		90% foraggi locali; frumento, girasole, insilati, fieno, paglia
2	Terracina (LT)	160	60	20	20		70% foraggi locali; girasole, insilati, fieno, paglia, mais, erba medica
3	Sabaudia (LT)	85	100				70% foraggi locali; frumento, insilati, mais
4	Sabaudia (LT)	90	100				90% foraggi locali; frumento, mais, erba medica
5	Pontinia (LT)	200	100				70% foraggi locali; frumento, mais, erba medica
6	Pontinia (LT)	200	100				70% foraggi locali; frumento, mais, erba medica
7	Sermoneta (LT)	200	95			5	100% foraggi locali; frumento, insilati, mais, erba medica
8	Latina	150	100				80% foraggi locali; frumento, mais, erba medica
9	Latina	80	100				70% foraggi locali; frumento, mais, erba medica
10	Pontinia (LT)	150	100				70% foraggi locali; frumento, mais, erba medica
11	Pontinia (LT)	200	100				70% foraggi locali; frumento, mais, erba medica

Tabella 1. Alcune caratteristiche delle aziende dell'Agro Pontino.

Azienda	N. isolati	Profilo RAPD
1	10	I, III, IV
2	9	I, II, III
3	9	I, II, IV
4	8	I, IV
5	9	I, IV
6	10	I, II, III, IV, VI
7	10	I, II, VIII, XII, XI, XIV
8	10	III, IV, V, VI, VII
9	10	II, V, XI
10	7	I, IV
11	9	I, II, III, IX, X

Tabella 2. Profili ottenuti mediante RAPD-PCR

RISULTATI E DISCUSSIONE

Le undici aziende coinvolte sono presenti nell'area dell'Agro Pontino nella provincia di Latina. Alcune caratteristiche (numero di capi presenti, razze e tipi di alimentazione) sono riportate in Tabella 1.

Nei campioni di latte esaminati erano assenti *Enterobacteriaceae* e enterococchi. I cocchi Gram⁺ e catalasi⁻ sono stati sottoposti a identificazione genetica.

101 isolati sono stati identificati mediante sequenziamento del gene 16S rRNA e, con una similarità del 99%, sono stati assegnati alla specie *S. thermophilus*. Per evidenziare la presenza di biotipi, è stata effettuata una RAPD-PCR. Sono stati evidenziati 14 profili RAPD: il profilo I si ritrova in tutte le aziende ad eccezione delle aziende 8 e 9; il profilo II è presente nelle aziende 2, 3, 6, 7, 9 e 11; il profilo III si ritrova nelle aziende 1, 2, 6, 8, 11; il profilo IV è presente nelle aziende 1, 3, 4, 5, 6, 8; il profilo V si ritrova solo in due aziende (8 e 9) così come il profilo VI (6 e 8); il profilo VII era specifico per l'azienda 8 mentre i profili VIII, XI, XII e XIV si ritrovavano solo nei ceppi dell'azienda 7 (Tabella 2).

Questo studio rappresenta il primo step per la caratterizzazione della popolazione di *S. thermophilus* presente nel latte dell'area dell'Agro Pontino. Le popolazioni microbiche, presenti nel latte dell'area studiata, potrebbero rappresentare uno dei fattori che caratterizzano la mozzarella prodotta nell'Agro Pontino, conferendo al prodotto una specifica identità territoriale.

RIFERIMENTI

- Tofalo R., Chaves-López C., Di Fabio F., Schirone M., Felis G. E., Torriani S., Paparella A., Suzzi G. 2009. Molecular identification and osmotolerant profile of wine yeasts that ferment a high sugar grape must. *Int J Food Microbiol.* 130: 179–187
- Bringel F., Castioni A., Olukoya D. K., Felis G. E., Torriani S., Dellaglio F. 2005. *Lactobacillus plantarum* subsp. *argenteratensis* subsp. nov., isolated from vegetable matrices. *Int J Syst Evol Microbiol.* 55: 1629–1634.