

# CARATTERIZZAZIONE MICROBIOLOGICA DI UN FORMAGGIO TIPICO ITALIANO: PECORINO DI LATICAUDA (NOTA I)

## ***MICROBIOLOGICAL CHARACTERIZATION OF A TYPICAL ITALIAN CHEESE: PECORINO DI LATICAUDA (PART I)***

Proroga Y.T.R., Cerrone A., Valvini O., Castellano S., Carullo M.R., Bove D., Guarino A., Iovane G.  
Dipartimento Ispezione degli Alimenti - Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Mezzogiorno

### **SUMMARY**

Pecorino di Laticauda is a traditional Italian goat milk cheese carrying a Protected Designation of Origin (PDO). Previously there was no information available on the microbiological characterization of Pecorino di Laticauda. The present work deals with the studies carried out on the microflora evolution during all the stages of maturation of cheese.

### **Keywords**

PDO cheese; characterization; microbiological analysis; laticauda sheep.

### **INTRODUZIONE**

Il Pecorino di Laticauda è il formaggio tipico delle pecore di razza laticauda, autoctona della provincia di Benevento, è il risultato di una lunga tradizione e cultura che partendo da questa preziosa risorsa disponibile nel territorio del Sannio Beneventano, ha affinato ed adattato le tecniche di trasformazione. In questo senso rappresenta la tangibile eredità di una cultura contadina non scritta ma complessa e ricca, sopravvissuta per forza d'inerzia, fra le pieghe di produzioni più redditizie. Le parti-

colarità di questa produzione sono determinate da tre fattori: l'alimentazione, la tecnica di trasformazione e le condizioni climatiche esistenti nel comprensorio. Il clima gioca un ruolo importante nelle fasi di allevamento, di preparazione e di stagionatura del prodotto, infatti la produzione avviene in comuni che hanno un'altitudine media di 600 m. s.l.m. con buona esposizione e ventilazione costante. La pecora di razza Laticauda si ritiene abbia avuto origine nei territori della provincia di Avellino e Benevento, attraverso meticciamenti ed incroci casuali tra una popolazione locale a coda grossa, ascrivibile

alla pecora Appenninica, e la pecora Berbera o Barbaresca di origine Nord-Africana, dalla quale ha ereditato diverse caratteristiche tra cui la coda grossa, adiposa ed espansa alla base, da cui il nome Laticauda (dal latino *latus*: largo; *cauda*: coda). Nel 1960 l'area principale di allevamento era allora il Napoletano; in tempi successivi si spostò verso Capua e da qui nell'Arianese e nel Beneventano. Attualmente, viene allevata, principalmente, nelle province di Avellino e Benevento anche se non mancano presenze significative in provincia di Caserta. Il pecorino che si ricava dal suo latte è noto da tempo antichissimo, alla fine del XIV secolo erano celebri nella tradizione locale dei comuni del Fortore (BN) i pecorini di laticauda, la cui bontà era dovuta, così come ancora oggi, alle erbe spontanee dei pascoli montani tra queste soprattutto al trifoglio ladino. Il latte fresco appena munto, o proveniente dalla mungitura precedente, viene filtrato e posto in caldaia per essere riscaldato fino ad una temperatura di 35/40 gradi e coagulato con caglio di agnello di Laticauda. In seguito alla rottura della cagliata, si formano dei piccoli grumi che, dopo un periodo di riposo, vengono raccolti manualmente e posti nelle fascere; il prodotto così ottenuto viene pressato con le dita, fino ad ottenere una massa compatta. Segue poi la salatura (in salamoia) e l'eventuale maturazione. Viene commercializzato dopo tempi diversi a seconda della tipologia: fresco 2gg, semistagionato 2 mesi, stagionato minimo 4 mesi. Durante la fase di stagionatura la forma viene lavata con siero bollente e con acqua di pozzo, anche se questa procedura non sempre viene eseguita. Quando il formaggio è maturo e comincia a "sudare", cioè emette qualche goccia di liquido, viene unto con olio extra vergine di oliva. Il Pecorino di Laticauda si presenta di tipica forma cilindrica, con pezzature che vanno da 300 gr. per il formaggio fresco, fino a circa 5.5 kg. per il formaggio stagionato. Al termine della stagionatura, la cui durata oscilla tra i 4 ed i 12 mesi, il prodotto presenta una consistenza dura, a tratti farinosa, non aderente allo strumento di taglio, con grana fine e frattura a scaglie, priva di cavità interne ed imperfezioni. Il colore varia dal giallo paglierino al giallo brillante, in relazione al tenore di grassi. Di odore gradevole ed intenso di latte pecorino, ha un sapore leggermente piccante. Nel panorama produttivo del settore lattiero-caseario italiano, specialmente di quello aziendale i formaggi di origine ovina e caprina rappresentano una realtà di capitale importanza. Si tratta di un comparto produttivo nel quale i suoi prodotti stanno riscuotendo un notevole successo e sono molto ricercati dai consumatori, basti pensare al Pecorino Romano, al Pecorino Toscano, al

Canestrato Pugliese e al Fiore Sardo, già fregiati di DOP; Di Cagno *et al.*, 2003 (3) hanno studiato e paragonato i parametri microbiologici di questi formaggi mediante identificazione fenotipica, mentre solo per i batteri lattici l'identificazione è stata eseguita mediante amplificazione e sequenziamento del gene 16S rRNA. La richiesta di riconoscimento della Denominazione di Origine Protetta al Pecorino di Laticauda sannita ai sensi del Reg. CEE 2081/92 (1), modificato dal Reg. CEE 510/2006 (2) è all'esame del Ministero delle Politiche Agricole e Forestali. Per il Pecorino di Laticauda, in letteratura non risultano dati sulla microflora caratterizzante, e per tale motivo ci si è posti degli obiettivi a medio e lungo periodo. Per prima cosa sono state studiate e paragonate tecnologie produttive diverse, in particolare relative alla produzione di pecorino con latte pastorizzato e quelle a latte crudo, per ognuna delle produzioni sono stati analizzati due lotti produttivi; una seconda parte del lavoro prevederà la caratterizzazione microbiologica della popolazione pro-tecnologica caratterizzante il prodotto dal punto di vista fenotipico e molecolare. In questo lavoro sono stati presentati i dati relativi alle produzioni a latte crudo.

## MATERIALI E METODI

È stata presa in analisi un'Azienda Agricola con circa 50 capi di pecore laticauda, ed è stato analizzato il processo produttivo che prevedeva l'utilizzo di latte crudo (Fig 3). Sono stati analizzati 2 lotti di produzione per un totale di 24 campioni, più precisamente si è deciso di campionare le seguenti fasi produttive: latte crudo, la cagliata al tempo 0, formaggio dopo salatura, al 1°-2°-3-4°e 5° giorno di asciugatura, dopo 15-30-50-70-100 giorni di stagionatura. Sono state effettuate analisi microbiologiche di tipo qualitativo per valutare la presenza di germi patogeni quali: *Salmonella* spp., *Listeria m.*, *Campylobacter* spp; utilizzando come metodica di ricerca le ISO di riferimento. (4) I parametri quantitativi ricercati sono relativi ai germi indicatori di igiene come: Carica mesofila totale, Coliformi totali, E. coli, Clostridi Solfito Riduttori, Enterococchi fecali, Stafilococchi coagulasi positivi, lieviti e muffe; ed è stata valutata la popolazione pro-tecnologica relativa ai: Lattobacilli mesofili e termofili, Lattococchi, Streptococchi termofili e Microstafilococchi. Per i conteggi, così come indicato nella norma UNI EN ISO 6887-1 "Preparazione campioni di prova, sospensioni iniziali e diluizioni per l'analisi microbiologica", sono stati pesati 10g di campione, addizio-

nati 90 ml di diluente peptonato ed effettuate diluizioni scalari e successive semine in piastra (5). Ad ogni prelievo sono stati controllati i valori di pH (MP 120 pH Meter-Mettler Toledo) ed  $a_w$  (Testo 650). Sono stati usati metodi ricavati da norme ISO, Rapporti Istisan e Afnor e riassunti nella tabella 1.

Tabella 1

Microrganismo	Terreno di coltura	Terreno di coltura (tempi e temperature)
Coliformi totali	Violet red bile lactose agar (Oxoid)	30 °C x 24 ore
<i>Escherichia coli</i>	Tryptone bile x-glucuronide (Oxoid)	44 °C x 24 ore
Carica batterica totale mesofila	Plate count agar (Oxoid)	30 °C x 72 ore
Clostridi solfito riduttori	Perfringens agar base (Oxoid)	37 °C x 24 ore (anaerobiosi)
Enterococchi fecali	Kanamycin aesculin azide (Oxoid)	37°C x 24 + 24 ore
<i>Staphylococcus aureus</i>	Baird Parker (Oxoid)	37°C x 48 ore
Lieviti	Rosa Bengala (Oxoid)	25 °C x 3-4 gg
Muffe	Rosa Bengala (Oxoid)	25 °C x 3-4 gg
Microstafilococchi	MSA (Oxoid)	37°C x 48 ore
Streptococchi termofili	M17 (Oxoid)	44 °C x 48 ore
Lattococchi	M17 (Oxoid)	25 °C x 48 ore
Lattobacilli termofili	MRS (Oxoid)	42°C x 48 ore (anaerobiosi)
Lattobacilli mesofili	MRS (Oxoid)	30°C x 72 ore (anaerobiosi)

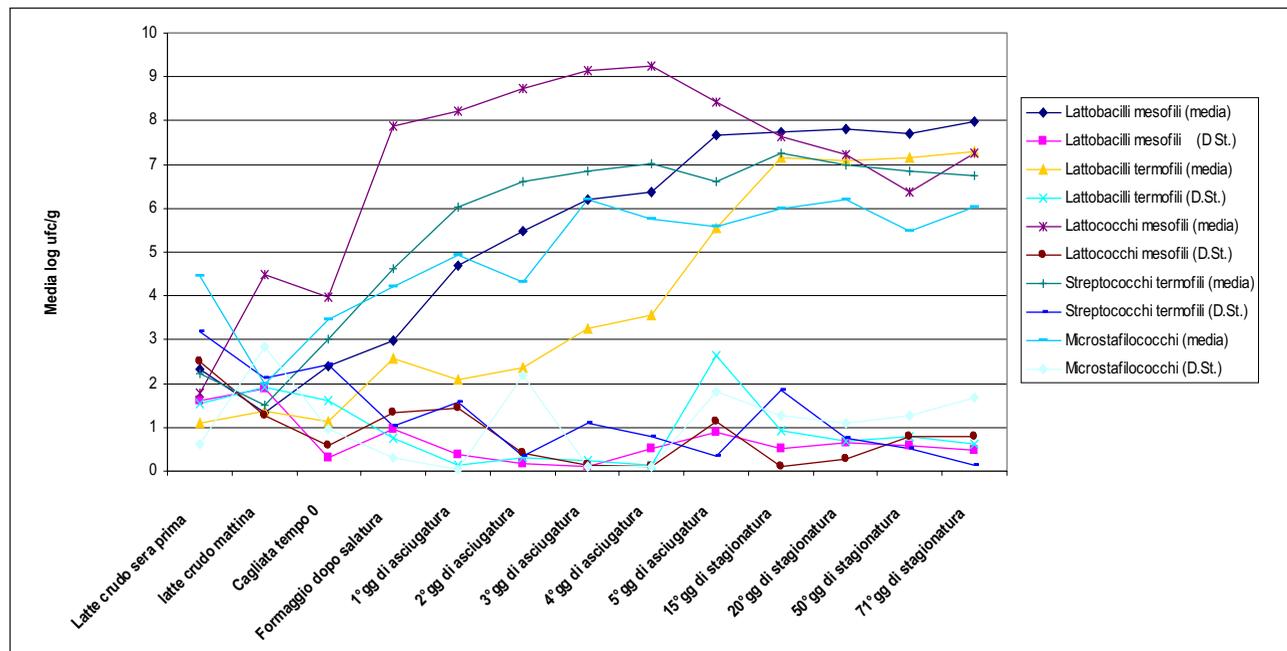


## RISULTATI E DISCUSSIONE

Dai due lotti di produzione del Pecorino di Latitcauda studiati, risultano valori di cariche microbiche abbastanza sovrapponibili. Nel grafico 1 è possibile verificare l'andamento della popolazione microbiologica pro-tecnologica; la popolazione relativa ai Lattococchi mesofili risulta la più rappresentativa, questi già presenti nel latte crudo, raggiungono carica di  $10^3$  ufc/g nella cagliata al tempo 0, e già al prelievo successivo, cioè al formaggio dopo salatura, raggiungono un valore di  $10^8$  ufc/g, poi ancora un logaritmo in più,  $10^9$  ufc/g al 5°gg di asciugatura, per poi subire un decremento e stabilizzarsi su valori di  $10^6$  -  $10^7$  ufc/g dal 15° gg di stagionatura in poi. Al contrario invece i lattobacilli termofili quasi assenti nel latte crudo, hanno un più lento accrescimento, e solo al 15°gg di stagionatura raggiungono livelli di carica simili a quelli relativi ai lattococchi, cioè di circa  $10^7$  ufc/g.

I risultati ottenuti sono stati paragonati a formaggi italiani prodotti con latte di pecora che hanno già ricevuto la DOP (Di Cagno *et al.*, 2003) (3); tali dati però deficiano di studi relativi all'evoluzione microbica relativa alle varie fasi di stagionatura. Infatti è stato valutato il dato analitico relativo al

Grafico - Media e Dev. St. di popolazioni microbiche pro-tecnologiche di due lotti di produzione di Pecorino di Laticauda



MICROBIA	Latte crudo sera prima	Latte crudo mattina	Cagliata al tempo 0	Formaggio dopo salatura	1°Giorno di asciugatura	2°Giorno di asciugatura	3°Giorno di asciugatura	4°Giorno di asciugatura	5°Giorno di asciugatura	15 Giorni di stagionatura	20 Giorni di stagionatura	50 Giorni di stagionatura	71 Giorni di stagionatura	101 Giorni di stagionatura
<b>Carica mesofila totale (Log ufc/g)</b>														
1°lotto	4,14	4,43	6,22	6,74	8,72	9,08	9,27	9,42	2,16	8,35	8,50	8,37	8,21	8,47
2°lotto	5,65	4,09	5,33	5,33	7,16	8,75	8,99	9,04	9,18	8,02	7,77	7,39	7,78	8,06
Media	4,90	4,26	5,78	6,04	7,94	8,92	9,13	9,23	5,67	8,19	8,14	7,88	8,00	8,27
Dev.St.	1,07	0,24	0,63	1,00	1,10	0,23	0,20	0,27	4,96	0,23	0,52	0,69	0,30	0,29
<b>Escherichia coli (Log ufc/g)</b>														
1°lotto	1,18	0,00	0,00	1,00	3,86	3,27	2,45	1,00	0,09	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
2°lotto	1,30	0,00	1,00	0,00	1,81	4,37	4,03	3,44	3,94	1,70	0,00	0,00	0,00	0,00
Media	1,24	0,00	0,50	0,50	2,84	3,82	3,24	2,22	2,02	0,85	0,00	0,00	0,00	0,00
Dev.St.	0,08	0,00	0,71	0,71	1,45	0,78	1,12	1,73	2,72	1,20	0,00	0,00	0,00	0,00
<b>Coliformi totali (Log ufc/g)</b>														
1°lotto	1,85	1,81	5,64	5,42	7,00	6,45	6,50	7,59	6,80	3,10	4,07	0,00	0,00	0,00
2°lotto	3,97	2,69	3,42	2,64	6,13	5,00	7,28	8,78	6,60	1,77	0,00	0,00	0,00	0,00
Media	2,91	2,25	4,53	4,03	6,57	5,73	6,89	8,19	6,70	2,44	2,04	0,00	0,00	0,00
Dev.St.	1,50	0,62	1,57	1,97	0,62	1,03	0,55	0,84	0,14	0,94	2,88	0,00	0,00	0,00
<b>Clostridi solfito riduttori (Log ufc/g)</b>														
1°lotto	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
2°lotto	0,00	0,00	1,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Media	0,00	0,00	0,50	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Dev.St.	0,00	0,00	0,71	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
<b>Enterococchi fecali (Log ufc/g)</b>														
1°lotto	0,00	0,00	4,52	5,11	5,19	6,92	6,90	7,20	6,78	7,85	7,80	6,29	6,39	5,46
2°lotto	4,59	3,00	3,32	4,44	5,29	5,63	5,90	5,77	5,62	5,79	5,77	5,95	5,72	7,26
Media	2,30	1,50	3,92	4,78	5,24	6,28	6,40	6,49	6,20	6,82	6,79	6,12	6,06	6,36
Dev.St.	3,25	2,12	0,85	0,47	0,07	0,91	0,71	1,01	0,82	1,46	1,44	0,24	0,47	1,27
<b>Stafilococco coagulasi positivo (Log ufc/g)</b>														
1°lotto	0,00	0,00	0,00	4,54	0,00	0,00	0,00	0,00	2,83	0,00	1,70	0,00	0,00	0,00
2°lotto	3,36	3,15	3,63	1,54	3,82	4,00	4,51	4,67	4,32	2,00	0,00	0,00	2,30	0,00
Media	1,68	1,58	1,82	3,04	1,91	2,00	2,26	2,34	3,58	1,00	0,85	0,00	1,15	0,00
Dev.St.	2,38	2,23	2,57	2,12	2,70	2,83	3,19	3,30	1,05	1,41	1,20	0,00	1,63	0,00
<b>Lieviti (Log ufc/g)</b>														
1°lotto	2,60	2,66	3,67	2,30	2,77	2,77	0,00	3,56	2,86	1,70	4,20	0,00	5,56	3,91
2°lotto	4,85	3,25	2,80	2,18	3,00	3,07	3,41	2,18	2,83	0,00	2,70	2,85	6,45	3,29
Media	3,73	2,96	3,24	2,24	2,89	2,92	1,71	2,87	2,85	0,85	3,45	1,43	6,01	3,60
Dev.St.	1,59	0,42	0,62	0,08	0,16	0,21	2,41	0,98	0,02	1,20	1,06	2,02	0,63	0,44
<b>Muffe (Log ufc/g)</b>														
1°lotto	2,43	2,50	3,57	2,00	2,30	2,30	0,00	3,83	2,74	0,00	0,00	0,00	2,78	2,00
2°lotto	2,70	2,26	2,43	1,70	2,43	0,00	0,00	0,00	2,00	4,84	0,00	0,00	1,70	3,47
Media	2,57	2,38	3,00	1,85	2,37	1,15	0,00	1,92	2,37	2,42	0,00	0,00	2,24	2,74
Dev.St.	0,19	0,17	0,81	0,21	0,09	1,63	0,00	2,71	0,52	3,42	0,00	0,00	0,76	1,04

prodotto a fine stagionatura che per i tre formaggi di pecora citati: Canestrato Pugliese, Fiore Sardo, Pecorino Romano (3) è di 12 mesi.

Rispetto ai tre pecorini studiati da Di Cagno *et al.*, 2003 (3), il Canestrato pugliese e il Pecorino di Laticauda, a fine stagionatura, hanno valori di lattobacilli termofili simili di circa  $10^6$  ufc/g, mentre i valori dei lattobacilli mesofili si avvicinano di più a quelli del Pecorino Romano.

Nel Pecorino di Laticauda gli streptococchi invece risultano di circa 2-3 logaritmi in più rispetto a tutti e tre i pecorini presi in considerazione da Di Cagno *et al.*, 2003 (3).

I batteri patogeni ricercati, *Salmonella* spp, *Listeria monocytogenes*, *Campylobacter* spp., sono risultati sempre assenti; ed anche i batteri indicatori di igiene (Tabella 3) sempre con valori molto bassi già a partire dalla materia prima, risultano assenti sul prodotto finito.

## CONCLUSIONI

L'obiettivo principale del presente progetto è stato quello di definire l'evoluzione della microflora caratterizzante il prodotto in esame, al fine di esaminare la qualità ed effettuare l'analisi del pericolo microbiologico. In questo lavoro abbiamo evidenziato la peculiarità del Pecorino di Laticauda, il quale, nonostante abbia una produzione di tipo artigianale, già dallo studio della materia prima ha evidenziato una ottima qualità igienico-sanitaria che si è mantenuta lungo tutte le fasi produttive.

La tipicità di questo prodotto, come dimostrato, non va a discapito della sicurezza; ne deriva che il cittadino/consumatore può sentirsi garantito nel consumo di questi prodotti di "nicchia" che vanno a valorizzare e rendere uniche le nostre produzioni campane.

Il prossimo obiettivo che ci poniamo è quello di ampliare i dati ottenuti, con caratterizzazione biomolecolare dei ceppi isolati al fine di dare un profilo completo del prodotto, diffondere le conoscenze al riguardo e quindi promuovere i prodotti tipici della nostra regione in tutto il territorio nazionale.

## BIBLIOGRAFIA

- 1) Regolamento (CEE) n° 2081/92 Del Consiglio del 14 luglio 1992 relativo alla protezione delle indicazioni geografiche e delle denominazioni di origine dei prodotti agricoli e alimentari (GU L208 del 24/07/1992)
- 2) Regolamento (CEE) n°510/2006 del Consiglio del 20 marzo 2006 relativo alla protezione delle indicazioni geografiche e delle denominazione d'origine dei prodotti agricoli e alimentari (GU L93/12 del 31/03/2006)
- 3) Di Cagno, Banks, Sheehan, Patrick, Brechany, Corsetti, Gobetti. 2003. Comparison of the microbiological, compositional, biochemical, volatile profile and sensory characteristics of three Italian PDO ewes' milk cheeses. International dairy journal
- 4) UNI EN ISO 6579 "Metodo orizzontale per la ricerca di *Salmonella* spp"; UNI EN ISO 11290-1 "Metodo orizzontale per la ricerca di *Listeria monocytogenes*"; UNI EN ISO 10272-1 "Metodo orizzontale per la ricerca di *Campylobacter* spp".
- 5) UNI EN ISO 6887-1 "Preparazione campioni di prova, sospensioni iniziali e diluizioni per l'analisi microbiologica.