

VALUTAZIONI IGIENICHE E COMPORTAMENTO DI *LISTERIA MONOCYTOGENES* NEL CORSO DELLA PRODUZIONE DELLA 'NDUJA DI SPILINGA

HYGIENIC EVALUATIONS AND LISTERIA MONOCYTOGENES BEHAVIOUR IN THE PRODUCTION OF 'NDUJA DI SPILINGA

Giarratana F., Marra A., Callipo E.¹, Ziino G., Signorino D., Giuffrida A., Panebianco A.

Dipartimento di Sanità Pubblica Veterinaria – Università di Messina

¹KAIROS M&C Srl – Vibo Valentia

SUMMARY

The aim of this work was to study the hygienic and qualitative parameters of a traditional meat product from Calabria, named 'Nduja di Spilinga, characterised by an high amount in fat (50%) and chilli pepper (25%). In this regard, 30 products, weight 500g, were prepared with and without chilli pepper (respectively, p-series: 15 products and np-series:15 products) and analysed for the count of Enterobacteria (Ent), Lactic Acid Bacteria (LAB), Gram+Catalase+Cocci (GCC+) and Yeasts. Furthermore pH, aw and Free Fatty Acids (FFA), expressed as percentage of oleic acid on 100g of total fat (TF), were evaluated. Finally, in order to estimate the potential compliance with the Regulation (EC) 2073/05 and further modifications, a challenge test for *Listeria monocytogenes* was carried out. Obtained data show a high decrease, during the seasoning, of Enterobacteria and *L. monocytogenes* especially in samples of p-series, according to their lower pH values than np-series samples. With regard to the microflora of technological interest, Yeast were the only population which significantly increases during the seasoning of p-series products, presumably influencing the increase of FFA which reached the highest concentration (5.75% oleic acid/TF) at the same time in which Yeasts reached maximum population density (17th day).

KEYWORDS

ripened meat product; *Listeria monocytogenes*; chilli pepper; food safety.

INTRODUZIONE

Il processo di tutela e valorizzazione delle produzioni agroalimentari tradizionali è stato, in quest'ultimo ventennio, particolarmente incentivato a livello locale e nazionale ricevendo, nel contempo, grosse attenzioni da parte dei ricercatori sia per quanto attiene agli aspetti qualitativi che a quelli igienico-sanitari. Tali contributi tecnico-scientifici hanno costituito, per diverse tipologie di prodotto, una base di dati sfruttabile sia nel contesto dei percorsi di certificazione DOP e IGP che anche per la risoluzione di problematiche legate al raggiungimento di specifici standard sanitari come quelli, ad esempio, definiti dal Reg. 2073/05 e successive

modifiche. A tal riguardo, significativi risultano, ad esempio, i numerosi contributi volti allo studio della presenza e/o sopravvivenza di *Listeria monocytogenes* in diverse tipologie di insaccati crudi stagionati tradizionali (1, 3, 4, 5, 6) che, appunto, forniscono importanti indicazioni per gli addetti del settore in funzione del rispetto dei limiti normativi previsti dal suddetto regolamento. È pur vero, tuttavia, che per alcune tipologie di prodotto sostanzialmente diverse per composizione e tecnologia dalla maggior parte degli insaccati crudi stagionati, le suddette acquisizioni potrebbero risultare non facilmente applicabili. E' questo, certamente, il caso della 'Nduja di Spilinga (VV), noto prodotto calabrese a base di carne per il quale, in questi ultimi anni, si è intrapreso un percorso di valo-

rizzazione volto all'ottenimento del marchio IGP. La sua produzione, sinteticamente, prevede l'impiego del 50% di tessuto adiposo, il 25% di parti muscolari magre e il 25% di peperoncino. Dopo triturazione, aggiunta del Cloruro di Sodio (3%) e impasto, l'insacco viene effettuato in involucri naturali di suino (intestino crasso e cieco). La stagionatura, in alcuni casi associata all'affumicamento, viene effettuata per tempi variabili da 25 gg (pezzature da 500g) a 90 gg (pezzature superiori a 1kg).

Le poche indagini su tale tipologia di prodotto (2, 8) hanno messo in evidenza alcune peculiarità derivanti, ad esempio, dall'elevata quantità di grasso (aw particolarmente basso, rapida tendenza all'irrancidimento), nonché alcune potenziali problematiche igieniche come l'isolamento di *Listeria* spp..

Sulla base di quanto detto ed al fine di contribuire al processo di valorizzazione della 'Nduja di Spilinga, scopo del presente lavoro è stato quello di caratterizzare igienicamente il prodotto in corso di processo valutando anche il comportamento di *L. monocytogenes* mediante l'effettuazione di un challenge test ed effettuando, infine, le stesse valutazioni anche in una serie di prodotti ottenuti senza peperoncino, al fine di valutare meglio la sua influenza sull'evoluzione dei parametri igienici del prodotto.

MATERIALI E METODI

Il presente studio è stato realizzato presso uno stabilimento aderente al Consorzio di Tutela della 'Nduja di Spilinga, impiegando 15 kg di impasto lavorato per la produzione di 30 prodotti con pezzatura pari a 500g ciascuno. In particolare, si procedeva, inizialmente, alla triturazione delle componenti magre e grasse (rispettivamente 50 e 25 percento dell'intero prodotto) e alla successiva contaminazione, in accordo con le indicazioni di Scott et al, (2005), con una sospensione di *L. monocytogenes* a titolo noto, al fine di ottenere una contaminazione pari a circa Log 5 ufc/g. Si procedeva, successivamente, a suddividere detto impasto in due parti al fine di realizzare due serie di campioni: la prima (serie-p) aggiungendo il peperoncino secondo le quantità previste dal disciplinare (25% dell'impasto totale) mentre la seconda (serie-np) ne era priva e ciò al fine di metterne in evidenza l'influenza sull'evoluzione dei parametri oggetto di studio.

Successivamente, per entrambe le serie, si procedeva all'insacco in budelli naturali di suino (intestino crasso) e alla successiva stagionatura per un periodo di 28 giorni.

Le valutazioni analitiche sono state effettuate,

in triplice, sul prodotto appena insaccato e dopo 96, 264, 408 e 600 ore dall'insacco e hanno riguardato la misurazione del pH, mediante pHmetro ad infissione Hanna Instruments HI9023CW, la valutazione dell'aw mediante misuratore AquaLab, Serie 3TE, la conta degli Enterobatteri totali (VRBA agar / 37°C x 24h), degli Staphilococchi coag. + (Bird Parker agar+tellurito / 37°C x 24-48h), dei Micrococchi (Bird Parker agar / 37°C x 24-48h), dei batteri lattici (LAB – MRS Agar anaerobiosi /30°C x 72 h), dei lieviti (DRBC Agar / 25°C x 5gg) e di *Listeria* spp. (UNI 11290-2). Inoltre, veniva effettuata la determinazione degli acidi grassi liberi (FFA) mediante titolazione esprimendo la loro concentrazione in percentuale di Ac. oleico sul grasso, previamente determinato con la metodica di Folch (1957). Al fine di valutare le condizioni di stagionatura, è stato, infine, effettuato il monitoraggio della temperatura, nel corso dell'intero processo, mediante l'impiego di data-logger (FT 800, Econorma,) posti all'interno e all'esterno di n. 3 campioni.

RISULTATI

I risultati delle valutazioni batteriologiche sono riportati nei grafici da 1 a 5. In particolare, relativamente ai parametri d'igiene e tecnologici, si segnala il decremento degli Enterobatteri (Fig. 1) specie per quanto riguarda i campioni con peperoncino (serie-p), la scarsa crescita dei batteri lattici (Fig. 2) e dei micrococchi (Fig. 3) che, anzi, nella serie "p" tendono ad un lieve decremento nel corso della stagionatura e, infine, l'incremento significativo dei Lieviti, specie nella serie "p" (Fig. 4). Molto importanti e significative, inoltre, le differenze relative al challenge-test per *L. monocytogenes* che ha messo in evidenza (Fig. 5), nella serie "p", un decremento di circa 2 logaritmi mentre, in quelli senza peperoncino (serie-np), un andamento altalenante con lieve tendenza al decremento. Detti comportamenti sono, almeno in parte, spiegati dalle differenze osservate negli andamenti del pH (Fig. 6) considerato che, nei campioni della serie-p, il pH, partendo da valori medi di 5.87 scendeva fino a valori di 5.57 mentre, nei campioni senza peperoncino, il pH non scendeva mai sotto i 6.4. Relativamente all'aw (Fig. 6), nella serie-p, si accertava una sua progressiva riduzione, probabilmente derivante dalla perdita di acqua del peperoncino al contrario di quelli senza peperoncino che, da valori iniziali molto più bassi, subivano un incremento nel corso della produzione, probabilmente legato alla lisi del tessuto adiposo con conseguente liberazione delle modiche quantità di acqua in esso contenuto. Anche l'andamento degli FFA (Fig. 7) nelle due

serie di prodotti ha mostrato significative differenze dal momento che, nei prodotti con peperoncino, il loro incremento si è osservato precocemente con un massimo al 17^{esimo} giorno (5.75% Ac. oleico / grasso totale) mentre, in quelli che ne erano privi, l'incremento è stato più lento nelle prime fasi di stagionatura, toccando invece livelli piuttosto elevati al 25^{esimo} giorno (6.61% Ac. oleico / grasso totale). L'andamento della temperatura registrato in corso di stagionatura ha messo in evidenza fluttuazioni piuttosto ampie con frequenze maggiori per valori compresi tra tra gli 11°C e i 12°C (Fig. 8).

CONSIDERAZIONI E CONCLUSIONI

I risultati ottenuti dimostrerebbero, innanzitutto, una certa stabilità microbica del prodotto legata ai bassi valori di a_w e pH e all'effetto della flora antagonista rappresentata, soprattutto, dai Lieviti che, peraltro, potrebbero condizionare il precoce incremento degli FFA vista la loro

ben nota attività lipolitica (10). Anche gli FFA, oltre a condizionare alcuni aspetti organolettici specifici del prodotto, potrebbero avere una certa influenza sul sensibile decremento degli Enterobatteri e, soprattutto, di *L. monocytogenes* in accordo con quanto dimostrato da Mbadi et al. (2004). Sempre relativamente al pH, i nostri dati indicano valori superiori a quelli evidenziati da Ranucci et al. (2006) e a quelli messi a disposizione dal Consorzio di Tutela della 'Nduja di Spilinga (sempre ≤ 5.0). Tale difformità sembrerebbe dipendere, come indicato dallo stesso produttore, dal grado di maturazione del peperoncino impiegato per la sperimentazione in oggetto, che, infatti, condiziona sostanzialmente l'acidità del prodotto. In relazione a ciò, la valutazione e la relativa standardizzazione nell'impiego di tale materia prima risulterebbe di particolare importanza nel contesto del raggiungimento di peculiari caratteristiche organolettiche come pure per il raggiungimento di elevati standard igienico-sanitari.

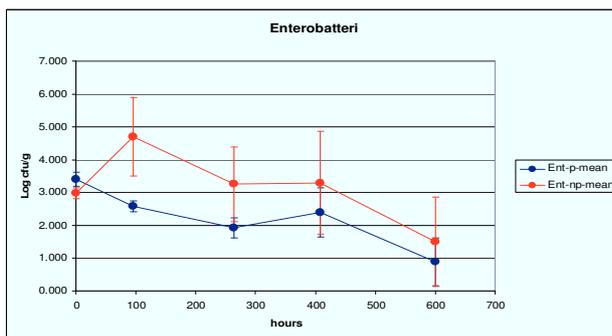


Fig. 1: andamento medio e deviazione standard degli Enterobatteri (Ent) in corso di stagionatura nei campioni con e senza peperoncino (rispettivamente p-mean e np-mean)

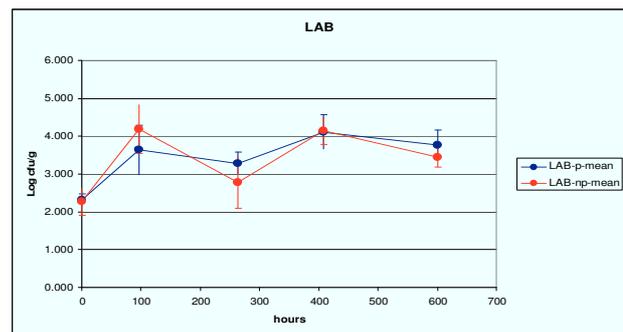


Fig. 2: andamento medio e deviazione standard dei batteri lattici (LAB) in corso di stagionatura nei campioni con e senza peperoncino (rispettivamente p-mean e np-mean)

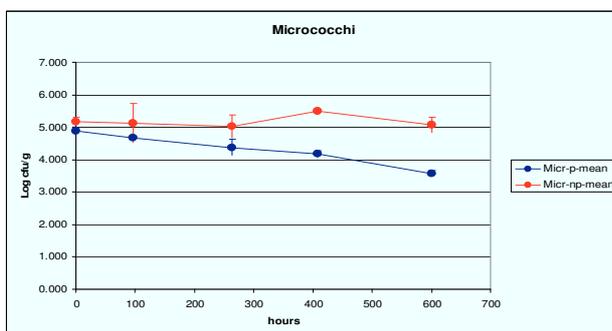


Fig. 3: andamento medio e deviazione standard dei Micrococchi (Micr) in corso di stagionatura nei campioni con e senza peperoncino (rispettivamente p-mean e np-mean)

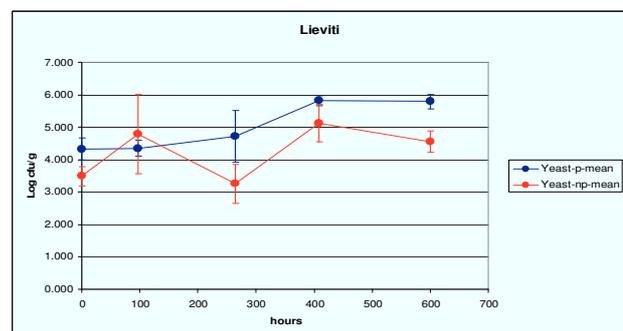


Fig. 4: andamento medio e deviazione standard dei Lieviti (Yeast) in corso di stagionatura nei campioni con e senza peperoncino (rispettivamente p-mean e np-mean)

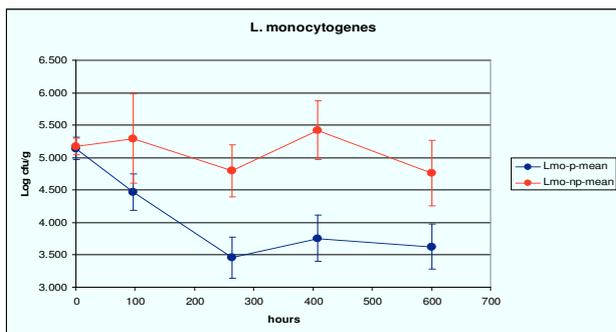


Fig. 5: andamento medio e deviazione standard di *L. monocytogenes* (Lmo) in corso di stagionatura nei campioni con e senza peperoncino (rispettivamente p-mean e np-mean)

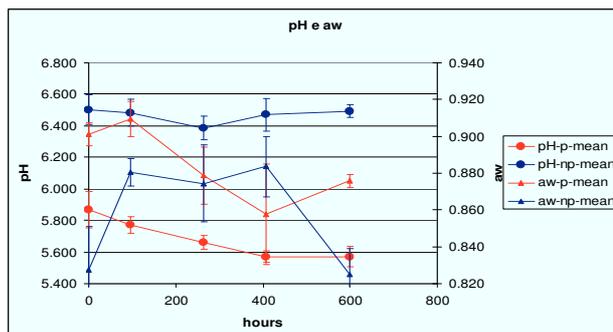


Fig. 6: andamento medio e deviazione standard del pH e dell'aw in corso di stagionatura nei campioni con e senza peperoncino (rispettivamente p-mean e np-mean)

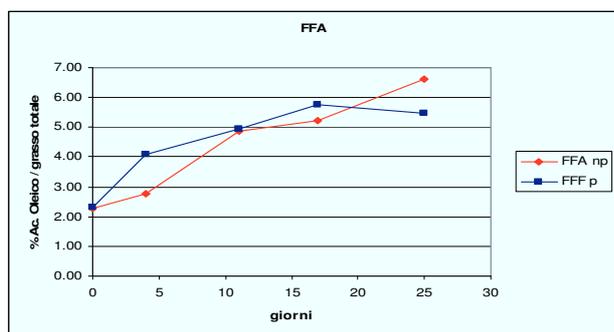


Fig. 7: andamento medio della concentrazione in FFA in corso di stagionatura nei campioni con e senza peperoncino (rispettivamente p e np)

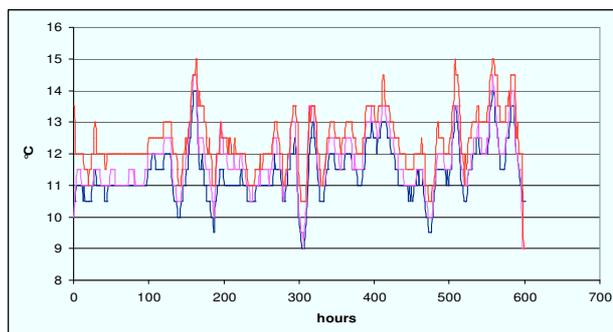


Fig. 8: andamento medio della T. Le tre serie di dati si riferiscono alle rilevazioni all'esterno e all'interno dei prodotti.

Per il raggiungimento di tali finalità, parimenti utile ci pare la selezione di starter autoctoni, a partire dalle popolazioni di Lieviti riscontrate. In relazione a quanto detto ed accertato, facendo riferimento alle indicazioni normative per *L. monocytogenes* (Reg. 2073/05 e succ. mod.), appare, comunque, improbabile un superamento dei limiti previsti, considerato che le caratteristiche del prodotto, oltre a non essersi mostrate idonee alla moltiplicazione del batterio ne hanno determinato un decremento in corso di stagionatura pari a quasi Log 2 ufc/g. Ciò, oltre a fornire una solida base di dati per gli operatori del settore nel contesto del raggiungimento degli standard igienici richiesti dalla normativa in vigore, rappresenta un'importante elemento per la tutela del prodotto e dei consumatori.

BIBLIOGRAFIA

1. Campanini M., Pedrazzoni I., Barbuti S., Baldini, P. (1993). Behaviour of *Listeria monocytogenes* during the maturation of naturally and artificially contaminated salami: effect of lactic-acid bacteria starter cultures. *International Journal of Food Microbiology*, 20, 169–175.
2. Casalnuovo F., Scognamiglio A., Miceli M. E., Tavulla E. (2005). I prodotti alimentari

tipici tra innovazione, tradizione e D.L.g.s. 155/97. *Industrie Alimentari*, 44 (12), 1260-1264.

3. Garzaroli, C. and Caserio, G. (1993) *Listeria* in Italian short-ripened salami. *Industrie Alimentari* XXXII, 39–40–44.
4. Gianfranceschi M., Gattuso A., Fiore A., D'ottavio M. C., Casale M., Palumbo A., Aureli P. (2006). Survival of *Listeria monocytogenes* in uncooked Italian dry sausage (salami). *Journal of Food Protection*, 69, 7, 1533-1538.
5. Giraffa, G. (2004) Studying the dynamics of microbial populations during food fermentation. *FEMS Microbiology Reviews* 28, 251–260.
6. Giuffrida A., Valenti D., Ziino G., Panebianco, A (2008). Study on the application of an interspecific competition model for the prediction of microflora behaviour during the fermentation process of S. Angelo PGI salami. *Veterinary Research Communications*
7. Mbandi E., Brywig M., Shelef L.A. (2004). Antilisterial effects of free fatty acids and monolaurin in beef emulsions and hot dogs. *Food Microbiology* 21, 815–818.
8. Ranucci D., Miraglia D., Branciarri R., Cioffi A., Mammoli R., Cenci Goga B.T. (2005).

Processo produttivo e caratteristiche qualitative di un prodotto tradizionale a base di carne: la 'Nduja. *Atti AIVI*, 16, 233-238.

9. Scott V., Swanson K., Freier T.A., Pruett P.W., Sveum W.H., Hall P.A., Smoot L. A., Brown D.G. (2005). Guidelines for conducting *Listeria monocytogenes* challenge testing of foods. *Food Protection Trends*, 25, (11), 818–825.
10. Sorensen B.B. (1997). Lipolysis of pork fat by the meat starter culture *Debaryomyces hansenii* at various environmental conditions. *International Journal of Food Microbiology*, 34, 187-193.