

# Biodiversità batterica nel formaggio “Nostrano di Primiero”.

**A. Cavazza<sup>1</sup>, E. Poznanski<sup>1</sup>, F. Gasperi<sup>1</sup>, P. Cocconcelli<sup>2</sup>, F. Cappa<sup>2</sup>**

<sup>1</sup> Istituto Agrario di S. Michele. S. Michele all'Adige (TN).

<sup>2</sup> Università Cattolica del Sacro Cuore - Istituto di Microbiologia Piacenza, Centro Ricerche Biotecnologiche, Cremona.

## INTRODUZIONE

La presente ricerca intende dare un contributo alla conoscenza degli elementi di tipicità microbiologica che caratterizzano il formaggio “Nostrano di Primiero”, prodotto nel Caseificio Sociale Comprensoriale di Primiero con latte proveniente da diverse aree del parco di Paneveggio-Pale di S. Martino. In particolare, gli obiettivi sono stati i seguenti:

1. l'individuazione delle popolazioni microbiche presenti nei diversi latti di malga;
2. la determinazione della loro provenienza (terreno, superfici delle stalle e dei materiali ed attrezzature impiegate per la mungitura, aria ambiente, superficie corporea...)
3. lo studio della loro evoluzione nel corso della trasformazione e della stagionatura del formaggio
4. l'allestimento di una coltura starter in grado di ricostituire il “mix” di popolazioni dei prodotti tipici.

## Materiali e Metodi.

Campionamenti ambientali.

Nel luglio 1999 sono stati effettuati campionamenti presso 13 malghe localizzate in tutto l'areale del Parco di Paneveggio - Pale di S. Martino: Rolle, Iuribello, Doch, Fossernica, Fosse, Veneggia, Veneggiotta, Vallazza, Neva, Pala, Ces, Fossetta, Boalon.

Lavorazione del latte.

Il latte delle malghe del Parco viene lavorato nel Caseificio Sociale Comprensoriale di Primiero. La raccolta viene fatta da due automezzi: il primo raccoglie il latte delle malghe della zona di Passo Rolle, il secondo quello della zona del Vanoi. Ciò che arriva in caseificio non è pertanto il latte delle singole malghe, ma latte di massa delle due principali “macrozone” del Parco. In caseificio le due partite di latte vengono tenute separate e vengono lavorate in sequenza.

In data 9 luglio 1999, sono state seguite due lavorazioni di formaggio “Nostrano di Primiero” realizzate presso il Caseificio Sociale Comprensoriale di Primiero. Le lavorazioni sono state fatte, come avviene quotidianamente, in caldaie da 1200 l.

Lo schema di lavorazione del “Nostrano di Primiero” è il seguente: il latte della sera, affiorato, viene aggiunto a quello della mattina, riscaldato a 34°C, aggiunto di lattoinnesto e caglio; dopo cottura a 48 °C, la cagliata viene messa in fascere e sottoposta a salatura; la stagionatura è di circa 6 mesi. Le lavorazioni fatte col latte di Passo Rolle e del Vanoi sono avvenute in successione, a distanza di poco tempo una dall'altra.

Stagionatura del formaggio.

La determinazione della composizione della microflora è avvenuta sul latte in caldaia, sul latte inoculato con lattoinnesto, sulla cagliata, e sul formaggio dopo 2, 7, 15 30 e 60 giorni.

Produzione del formaggio con latte invernale.

Per valutare l'effetto delle colture isolate dalle produzioni con i due tipi di latte di malga prodotto in estate, nel maggio 2000 è stata realizzata una prova con latte invernale, prodotto da animali alimentati in stalla con foraggio. Accanto alla produzione realizzata con la procedura tradizionale del Caseificio, sono state effettuate due prove in cui al latte erano state aggiunte, in quantità nota, colture di ceppi isolati dalle produzioni estive, ed in cui è stato fatto uso di un lattoinnesto. Esso conteneva una miscela di 4 ceppi di cocchi termofili precedentemente isolati dal lattoinnesto della lavorazione estiva e di 2 ceppi di cocchi termofili di provenienza ambientale.

La “coltura Rolle” era composta da una miscela di ceppi di lattobacilli termofili eterofermentanti, lattobacilli mesofili, enterococchi, pediococchi, lattococchi.

La “coltura Vanoi” era composta da una miscela di ceppi di lattobacilli mesofili, lattobacilli eterofermentanti, lattococchi, pediococchi, mentre non erano presenti enterococchi e ceppi termofili.

Caratterizzazione dei ceppi.

Le tecniche di analisi del genoma, ed in particolare i sistemi di fingerprinting mediante PCR, hanno aperto nuove possibilità di tipizzazione dei batteri e di indagine sulla composizione in ceppi delle associazioni microbiche complesse. In particolare i ceppi isolati sia nei campioni ambientali che nei prelievi durante le fasi di caseificazione

sono stati analizzati mediante tecnica RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA). Questa tecnica, per la sua velocità di esecuzione e per la sua riproducibilità, è stata impiegata come sistema per monitorare i ceppi batterici nell'ambiente-formaggio, un ambiente complesso, e per studiare le cinetiche di crescita dei diversi ceppi costituenti l'associazione microbica delle colture naturali che hanno fermentato il latte. I differenti biotipi di cocchi termofili ottenuti dalle analisi RAPD e dagli isolamenti su terreno colturale selettivo sono infine stati indagati con metodica PCR utilizzando primers specifici per l'amplificazione del gene lacZ di *Streptococcus thermophilus* al fine di differenziare gli enterococchi dagli streptococchi termofili.

È stato così possibile seguire i ceppi batterici durante la fermentazione e la stagionatura, identificare i ceppi che di volta in volta hanno dominato le associazioni microbiche, e studiare le cinetiche di crescita delle differenti popolazioni di batteri lattici nelle colture complesse, in funzione delle condizioni ambientali controllate.

## RISULTATI

### COMPOSIZIONE DELLA MICROFLORA DEL LATTE E DEL FORMAGGIO.

Al momento della lavorazione, cioè dopo affioramento, il latte estivo impiegato per produrre il "Nostrano di Primiero" aveva una composizione microbica differente in base alla zona di provenienza. Quello proveniente dalla zona di Passo Rolle aveva una carica microbica non elevata, in cui la flora lattica prevalente è risultata costituita da ceppi con cellule a forma sferica, cioè cocchi, sia mesofili che termofili, mentre al contrario nel latte proveniente dalle malghe del Vanoi la carica microbica era leggermente più elevata, con prevalenza di lattobacilli, in cui i ceppi mesofili erano più abbondanti dei termofili.

Il latte invernale utilizzato per le prove di caseificazione con le colture integrative (Coltura Vanoi e Coltura Rolle, rispettivamente) aveva una carica microbica confrontabile con quella del latte del Vanoi (tab. 1), sia in numero che in composizione: vi prevalevano le forme mesofile. La carica totale del latte utilizzato per la lavorazione di controllo era superiore a quella del latte del Vanoi e del latte di Passo Rolle, con una predominanza di forme mesofile sia cocciche che bacillari.

È interessante sottolineare la presenza di enterococchi nel latte invernale, in numero variabile tra  $3,0 \cdot 10^3$  e  $1,6 \cdot 10^4$ , paragonabile a quello del latte estivo di Passo Rolle.

La composizione dei lattici è riportata in Tab. 1.

MICRORGANISMI	VANOI	ROLLE	Coltura "Vanoi"	Coltura "Rolle"	Controllo
Coliformi	< 500	< 500	< 500	< 500	< 500
Lattobacilli Mesofili	$1,7 \cdot 10^5$	$5,0 \cdot 10^2$	$1,2 \cdot 10^4$	$5,2 \cdot 10^4$	$2,0 \cdot 10^5$
Lattobacilli Termofili	< 500	< 500	< 500	< 500	< 500
Cocchi Mesofili	$4,4 \cdot 10^5$	$8,6 \cdot 10^4$	$4,1 \cdot 10^4$	$9,5 \cdot 10^4$	$6,0 \cdot 10^5$
Cocchi Termofili	$1,2 \cdot 10^4$	$9,5 \cdot 10^4$	$4,0 \cdot 10^4$	$2,9 \cdot 10^4$	$2,8 \cdot 10^4$
<i>Streptococcus thermophilus</i>	$1,2 \cdot 10^4$	$9,4 \cdot 10^4$	$3,6 \cdot 10^4$	$1,3 \cdot 10^4$	$2,5 \cdot 10^4$
Pediococchi Mesofili	< 500	< 500	< 500	< 500	< 500
Pediococchi Termofili	< 500	< 500	< 500	< 500	$8,5 \cdot 10^3$
Enterococchi	$5,0 \cdot 10^2$	$1,5 \cdot 10^3$	$4,5 \cdot 10^3$	$1,6 \cdot 10^4$	$3,0 \cdot 10^3$
LAB acidificanti Mesofili	$3,6 \cdot 10^5$	$2,0 \cdot 10^4$	$4,1 \cdot 10^4$	$1,2 \cdot 10^5$	$3,0 \cdot 10^4$
LAB acidificanti Termofili	$4,5 \cdot 10^3$	$5,1 \cdot 10^4$	$6,5 \cdot 10^3$	$2,3 \cdot 10^4$	$1,0 \cdot 10^2$
<b>Batteri lattici totali</b>	<b><math>5,5 \cdot 10^5</math></b>	<b><math>9,8 \cdot 10^4</math></b>	<b><math>9,3 \cdot 10^4</math></b>	<b><math>1,8 \cdot 10^5</math></b>	<b><math>8,3 \cdot 10^5</math></b>

Tab. 1. Carica microbica (ufc/ml) e composizione della microflora del latte proveniente dalle malghe del Vanoi e di Passo Rolle (VANOI, ROLLE), e del latte invernale (Coltura "Vanoi", Coltura "Rolle", Controllo) al momento della lavorazione in caseificio.

Differenze nell'evoluzione della microflora si sono osservate anche successivamente, per tutto il periodo della stagionatura.

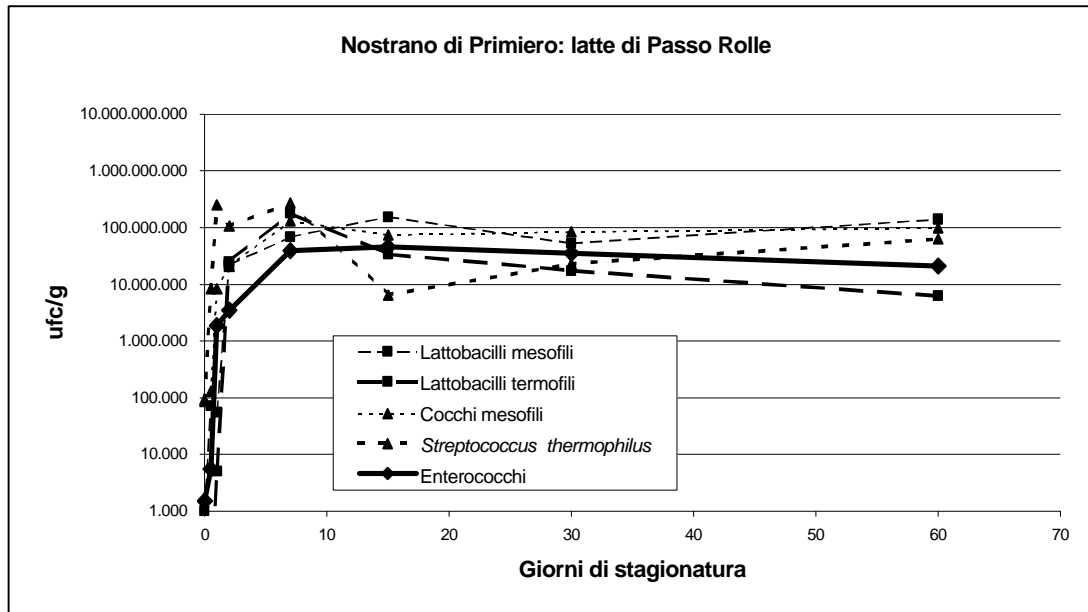


Fig. 1 Sviluppo di specie microbiche nel “Nostrano di Primiero” prodotto con latte delle malghe di Passo Rolle.

Nei primi 10 giorni, nel formaggio prodotto con latte di Passo Rolle si è osservato un rapido sviluppo dei cocchi termofili, che risultavano dominanti dopo 48 ore dalla lavorazione, quando anche il numero delle forme a bastoncino, sempre termofile, ha raggiunto e superato la soglia di  $10^8$  ufc/g. Successivamente, le forme termofile hanno fatto osservare un declino, al contrario quelle mesofile si sono mantenute ad un livello appena inferiore alle  $10^8$  ufc/g, risultando prevalenti dopo 15 giorni e fino al termine del periodo seguito (60 giorni).

Diversamente, nel formaggio prodotto col latte del Vanoi, nonostante un precoce sviluppo delle forme cocciche termofile, probabilmente apportate col lattoinnesto, dopo 48 ore le specie mesofile hanno preso il sopravvento, dapprima prevalendo quelle con cellule a cocchi, poi i lattobacilli, con cellule a bastoncino. La crescita cellulare dei cocchi termofili è stata comunque inferiore, e si è mantenuta al di sotto della soglia delle  $10^8$  ufc/g ben oltre le prime 48 ore. Solo nei prelievi del settimo e del quindicesimo giorno è stata superata tale soglia.

Gli enterococchi costituiscono un altro gruppo microbico di rilevante interesse caseario, ed anche per questi si sono osservate differenze tra le due lavorazioni. Nel “Nostrano” prodotto con latte di Passo Rolle la loro presenza era superiore a  $10^6$  ufc/g già dopo 24 ore, e si è presto portata sopra le  $10^7$  ufc/g, soglia al di sopra della quale si è mantenuta per tutto il periodo seguito. Nel formaggio prodotto con latte del Vanoi lo sviluppo è stato invece inferiore, e la loro presenza è stata minore di  $10^7$  ufc/g per tutto il periodo di stagionatura seguito.

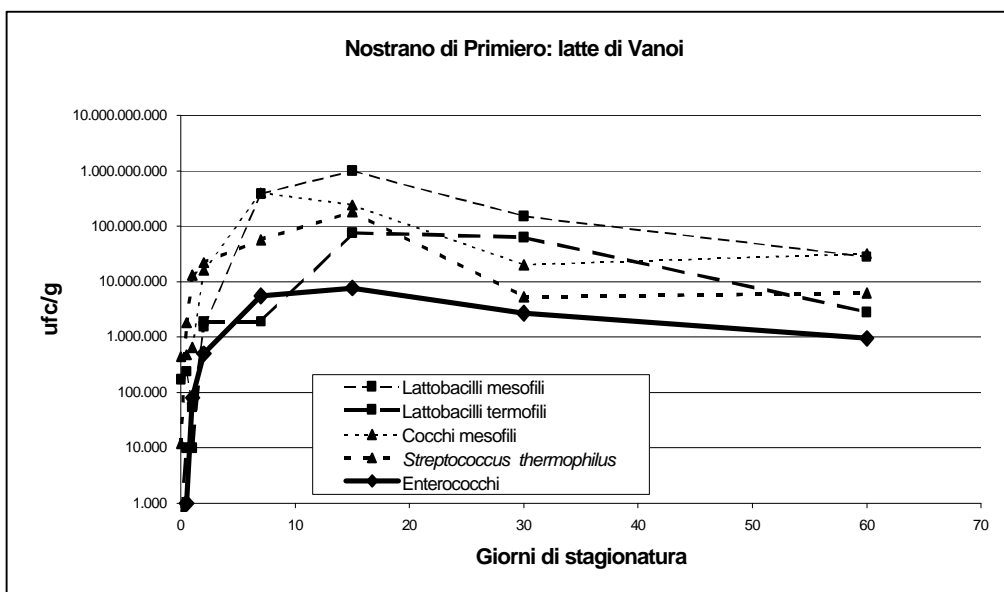


Fig. 2. Sviluppo di specie microbiche nel “Nostrano di Primiero” prodotto con latte delle malghe del Vanoi.

Complessivamente, le differenze osservate nelle due lavorazioni di formaggio Nostrano di Primiero ottenuto con latte proveniente dalle malghe di Passo Rolle e del Vanoi sono state rilevanti in ogni fase della stagionatura, e ciò si è ripercosso sui caratteri sensoriali dei formaggi.

In una fase successiva del lavoro è stata pertanto eseguita una lavorazione di “Nostrano di Primiero” finalizzata a riprodurre le caratteristiche dei prodotti estivi, partendo da latte invernale. A questo è stato aggiunto un lattoinnesto – comune alle due lavorazioni – ottenuto con una coltura di ceppi isolati sia dal lattoinnesto estivo che dall’ambiente. Oltre al lattoinnesto, per riprodurre nelle due lavorazioni invernali le caratteristiche di quelle estive, sono state aggiunte nelle due caldaie due diverse miscele di ceppi batterici isolati durante la stagionatura delle due tipologie di forme estive. Una lavorazione di controllo è stata eseguita senza colture integrative, impiegando il normale lattoinnesto del caseificio.

Di queste tre lavorazioni è stato seguito l’andamento delle successioni microbiche durante la lavorazione e nel corso della stagionatura (Figg. 3, 4 e 5).

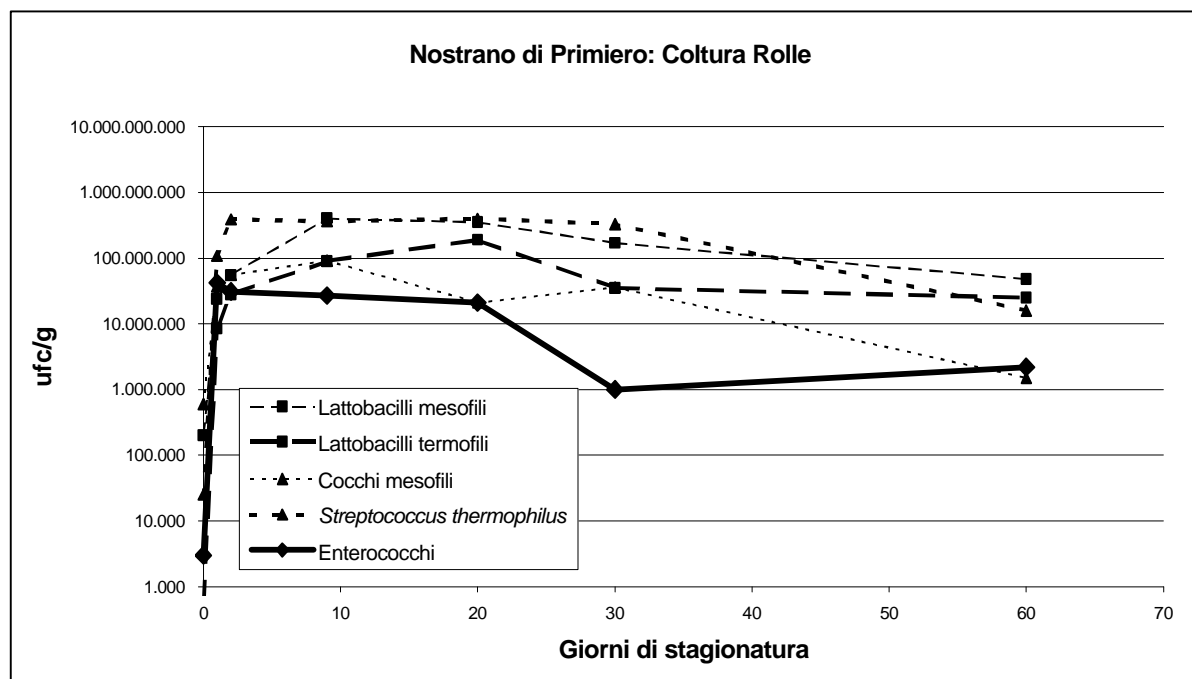


Fig. 3. Sviluppo di specie microbiche nel “Nostrano di Primiero: Coltura “Rolle”.

Durante i primi 10 giorni, nel formaggio prodotto con la coltura “Rolle” (Fig. 3) si è osservato un rapido sviluppo dei cocchi termofili, che risultavano dominanti dopo 48 ore dalla lavorazione, e che si sono mantenuti sopra le  $10^8$  ufc/g fino ai 30 giorni, per declinare a  $10^7$  ufc/g dopo 60 giorni. Uno sviluppo analogo hanno presentato anche i bacilli mesofili, che insieme ai cocchi termofili hanno dominato sulle altre popolazioni microbiche fino ai 30 giorni, per poi declinare verso la fine del periodo d’osservazione. I bacilli termofili sono cresciuti dalle  $10^7$  alle  $10^8$  ufc/g durante i primi 20 giorni, per attestarsi sulle  $10^7$  ufc/g nel periodo successivo.

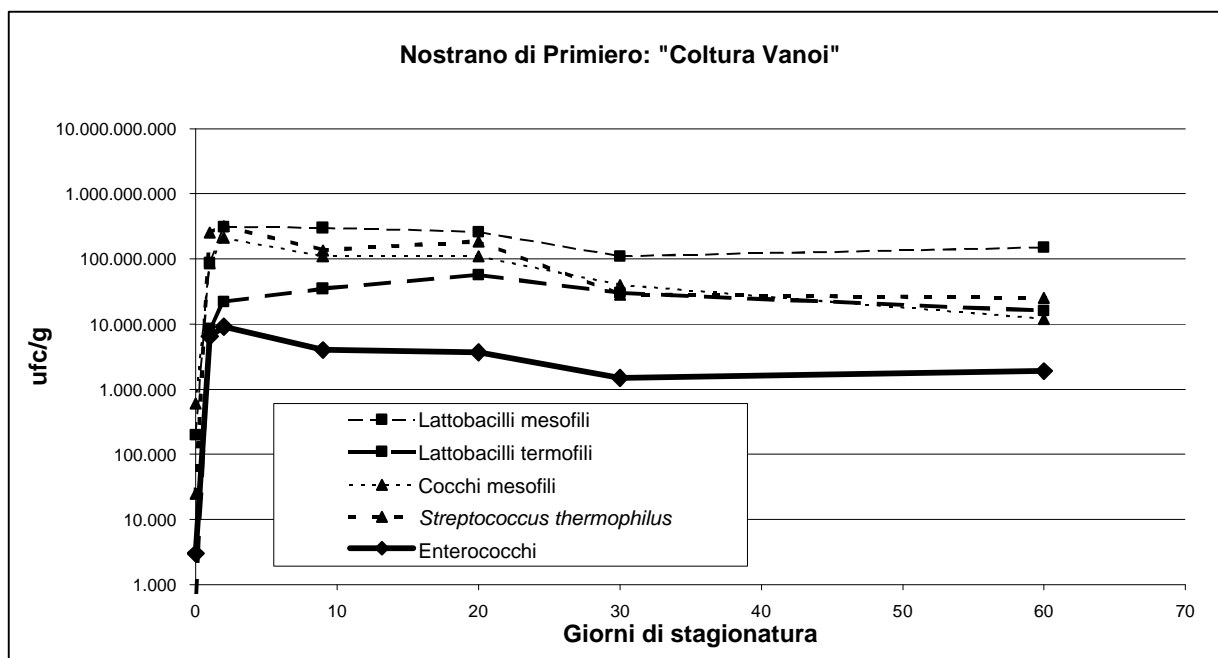


Fig. 4. Sviluppo di specie microbiche nel "Nostrano di Primiero": Coltura "Vanoi".

Diversamente, nel formaggio prodotto con la coltura "Vanoi" (Fig. 4), allo sviluppo precoce delle forme cocciche termofile apportate col lattoinnesto si è sovrapposta la crescita dei bacilli mesofili, che hanno rappresentato la popolazione predominante durante tutte le fasi di maturazione, presente sempre in numero superiore alle  $10^8$  ufc/g. Su questi valori si sono attestate anche le popolazioni di cocchi – sia mesofili che termofili – che hanno iniziato a declinare verso il 30° giorno. I bacilli termofili hanno in questo caso avuto una crescita limitata, non raggiungendo in nessuna fase le  $10^8$  ufc /g.

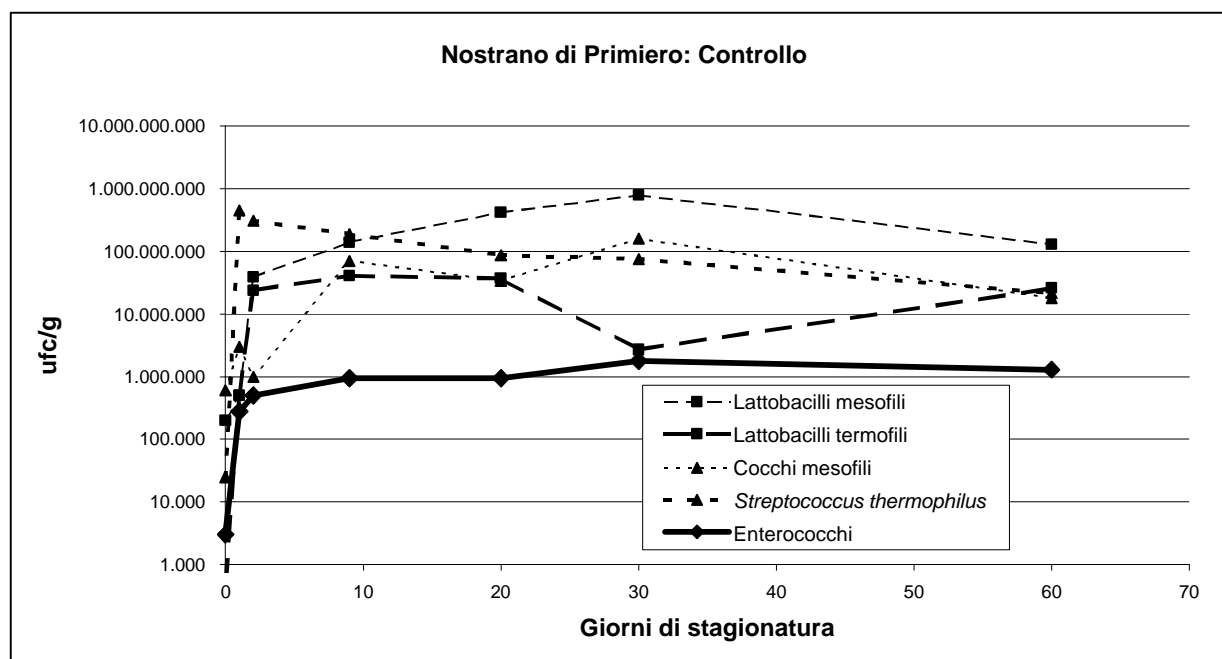


Fig. 5. Sviluppo di specie microbiche nel "Nostrano di Primiero", lavorazione di controllo con latte invernale.

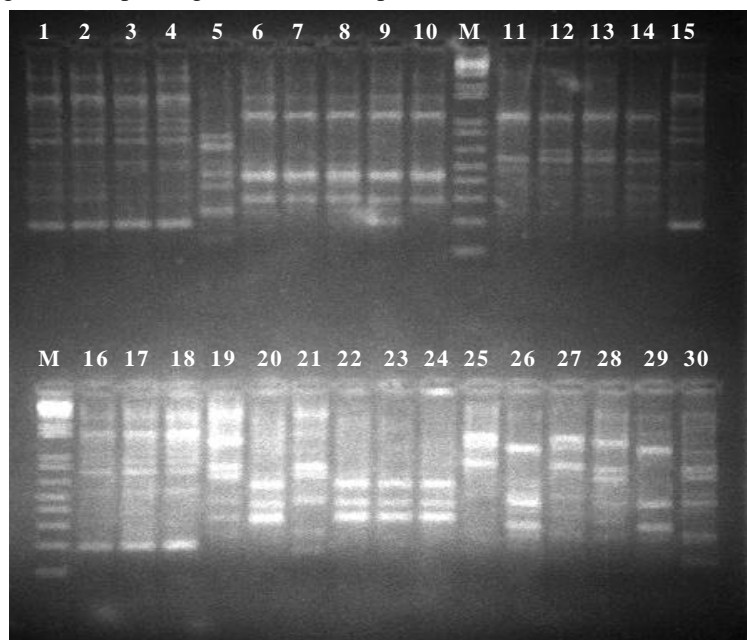
La lavorazione di controllo (Fig. 5) ha mostrato andamento differente rispetto a ciascuna delle altre due lavorazioni: ad uno sviluppo rapido e massiccio (ben oltre le  $10^8$  ufc/g) dei cocchi termofili dopo le 48 ore, è seguito quello dei bacilli mesofili, che hanno quasi raggiunto le  $10^9$  ufc/g al trentesimo giorno. Cocchi mesofili e bacilli termofili sono stati costantemente presenti in quantità superiori alle  $10^7$  ufc/g.

Complessivamente, nella prova con la coltura "Rolle" le forme termofile (cocchi e bastoncini) hanno rappresentato la popolazione dominante in tutte le fasi di stagionatura delle forme; nella prova con la coltura "Vanoi" le forme predominanti sono sempre state quelle mesofile, mentre nella lavorazione di controllo hanno predominato le forme termofile fino al prelievo del 10° giorno, per cedere poi il posto alle forme mesofile.

Gli enterococchi erano presenti in misura consistente in tutte e tre le lavorazioni, e maggiormente nella lavorazione con la coltura "Rolle". Ciò è ascrivibile al fatto che in tutti i latti di partenza di questa prova gli enterococchi erano già presenti (Tab. 1), ed a questi si sono sommati quelli inoculati con la coltura "Rolle". Inoltre anche nel latte innesco ne è stata rilevata una quantità non trascurabile di circa  $10^7$  ufc/g.

#### Analisi molecolare

Un numero significativo di ceppi, isolati durante la maturazione del formaggio (quelli dominanti a 48 ore, dopo 15 giorni e dopo 30 giorni) e dai campioni ambientali, è stato studiato con tecniche molecolari. Sia i batteri lattici con



morfologia bacillare che le forme cocciche sono state studiate utilizzando la tecnica RAPD, che permette di differenziare i diversi polimorfismi del DNA tra un ceppo ed un altro.

Fig. 6. Profili RAPD di ceppi di cocchi termofili isolati da formaggio "Nostrano di Primiero" della zona del Vanoi e di Passo Rolle, e di cocchi mesofili isolati dalle forme di Passo Rolle durante la stagionatura. Corsie 1-14: cocchi termofili isolati da Vanoi; 15-24: cocchi termofili isolati da Rolle; 25-30: cocchi mesofili isolati da Rolle. M: marcatore di peso molecolare (1 Kb Ladder Plus, Life Technologies).

L'analisi RAPD effettuata su ceppi di cocchi termofili isolati dalle due zone e di cocchi mesofili isolati solo da Passo Rolle, ha dato i risultati riportati nelle fig. 6 e 7. I profili dei 14 ceppi esaminati di cocchi termofili isolati dalla zona del Vanoi sono riconducibili a 3 gruppi omogenei, visibili nelle corsie 1-4, 6-10, 12-14 della fig. 6, mentre nella la corsia 5 è visibile un quarto profilo singolo. I ceppi di cocchi termofili della zona di Passo Rolle sono nelle corsie 15-24 di fig. 6 nella fig. 7: fra di essi si possono riconoscere 9 differenti profili, raggruppabili nelle corsie [15-18], [19], [20, 22-24], [21], [40-42], [43-44], [46-47], [45, 49], [48].

Anche per i ceppi mesofili si è osservata la stessa variabilità, maggiore tra quelli isolati da Passo Rolle (fig. 6, corsie 25-30 e fig. 7, corsie 31-39) rispetto a quelli isolati dal Vanoi (dati non riportati).

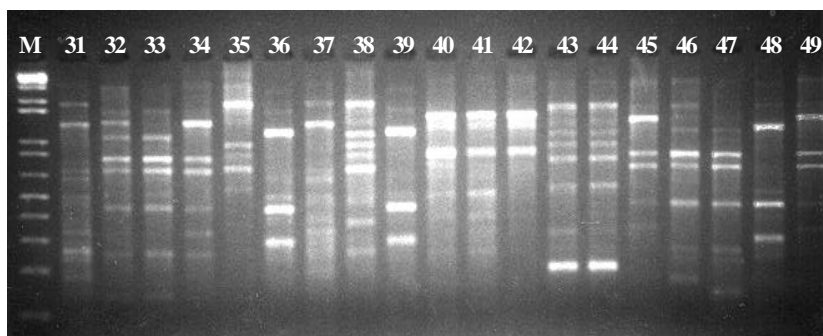


Fig. 7. Profili RAPD di ceppi di cocchi mesofili e termofili isolati da formaggio "Nostrano di Primiero" della zona di Passo Rolle durante la stagionatura. Corsie 31-39: cocchi mesofili; 40-49: cocchi termofili; M: marcatore di peso molecolare (1 Kb Ladder Plus, Life Technologies).

Nell'insieme, si è evidenziata la presenza nel Nostrano di Primiero di una notevole eterogeneità di biotipi, sia di forma bacillare che coccica. In tab. 2 è indicato, per ogni tipologia di ceppo e per ogni zona di isolamento, il numero complessivo di profili di amplificazione riferito al numero di ceppi analizzati. Il numero di biotipi negli isolati della lavorazione con il latte di Passo Rolle è risultato più elevato rispetto a quello negli isolati dal Vanoi.

Tipologia di ceppo	Zona d'isolamento	N° Profili RAPD	N° di ceppi analizzati
Cocchi termofili	VANOI	5	15
Bacilli mesofili	VANOI	8	29
Cocchi termofili	ROLLE	9	20
Cocchi mesofili	ROLLE	9	15
Bacilli mesofili	ROLLE	12	24

Tab. 2. Numero di ceppi analizzati con tecniche molecolari e numero dei relativi profili RAPD evidenziati.

Le analisi molecolari sono state effettuate anche su campioni di origine ambientale raccolti nelle prime fasi del presente lavoro. Dagli isolati dei campioni ambientali non sono state ritrovate forme bacillari riconducibili ai batteri lattici, al contrario ritrovate durante la lavorazione. Invece sono stati isolati numerosi ceppi con morfologia coccica. Al



fine di differenziare con certezza nell'ambito delle forme cocciche gli enterococchi dagli streptococchi termofili è stata utilizzata la tecnica PCR impiegando primers specifici che amplificano il gene lacZ dello *Streptococcus thermophilus*. Questa tecnica ha permesso di individuare con certezza i ceppi isolati riconducibili allo *Streptococcus thermophilus* che sono tra i più interessanti per questo tipo di prodotto caseario. Inoltre tra i ceppi di *Streptococcus thermophilus* identificati, 2 provenivano dai campioni ambientali effettuati nelle malghe dove avviene la mungitura. Nella figura 8 sono evidenti gli amplificati del gene lacZ di *Streptococcus thermophilus* in almeno 8 campioni.

Figura 8. Amplificati del gene lacZ in ceppi di *Streptococcus thermophilus* dall'ambiente.

#### Analisi sensoriale.

I due formaggi ottenuti con il latte delle malghe di Passo Rolle e del Vanoi sono stati sottoposti ad analisi sensoriale, tramite un test di differenza effettuato su campioni conservati a 4°C dopo 5 mesi di stagionatura delle forme.

I campioni, tolti dal frigorifero 2 ore prima dell'inizio della seduta, sono stati ottenuti asportando uno strato di 1,5 cm da ogni lato dello spicchio e grattugiandoli (di 1-2 mm). E' stato deciso di eseguire il test sul campione grattugiato perché i 2 formaggi presentavano evidenti differenze nell'aspetto esteriore e pertanto potevano essere facilmente riconoscibili anche solo alla vista. I campioni grattugiati sono stati presentati in bicchierini contraddistinti da un numero casuale a 3 cifre.

Un panel di giudici appartenenti al Gruppo di Analisi sensoriale dell'IASMA ha eseguito una serie di test triangolari sui 2 campioni grattugiati: sono state programmate 3 repliche, effettuate in sedute a cadenza settimanale: ogni giudice ha eseguito nella stessa seduta 3 test triangolari. Ciascun test triangolare era composto da tre campioni contrassegnati da numeri casuali: due di questi campioni erano uguali mentre uno era diverso. Al giudice è stato chiesto di indicare il campione diverso su una scheda consegnata con i campioni che riportava anche la procedura per l'esecuzione del test.

L'ordine di presentazione dei campioni all'interno dei test è stato definito in maniera casuale in modo da minimizzare gli effetti legati all'ordine di presentazione.

Nella tabella 3 sono riassunti i risultati ottenuti: relativamente ad ognuna delle 3 sedute sono riportati il numero di giudici che hanno eseguito i test, il numero di risposte esatte per ognuno dei 3 test e complessivo della seduta, e la relativa significatività della differenza riscontrata tra i 2 formaggi.

1° SEDUTA	N°Giudici	N° differenze rilevate TEST 1	N° differenze rilevate TEST 2	N° differenze rilevate TEST 3	N° test TOTALE	N° differenze rilevate TOTALE
	15	8	10	7	45	25
<b>Differenza tra campioni</b>		? = 0.1	? = 0.01	n.s.		? < 0.01

2° SEDUTA	N°Giudici	N° differenze rilevate TEST 1	N° differenze rilevate TEST 2	N° differenze rilevate TEST 3	N° test TOTALE	N° differenze rilevate TOTALE
	13	6	7	5	39	18
<b>Differenza tra campioni</b>		n.s.	n.s.	n.s.		? = 0.1

3° SEDUTA	N°Giudici	N° differenze rilevate TEST 1	N° differenze rilevate TEST 2	N° differenze rilevate TEST 3	N° test TOTALE	N° differenze rilevate TOTALE
	13	10	10	10	39	30
<b>Differenza tra campioni</b>		? = 0.01	? = 0.01	? = 0.01		? < 0.01

? = livello di significatività,

n.s. = differenza non significativa per ? > 0.1

Tab. 3. Risultati dell'analisi sensoriale eseguita sui campioni di "Nostrano di Primiero" prodotto con latte di malga proveniente dalle zone di Passo Rolle e del Vanoi

L'analisi sensoriale ha messo quindi in evidenza che i 2 formaggi ottenuti con latte delle malghe di Passo Rolle e del Vanoi sono risultati dal punto di vista statistico significativamente diversi nelle 3 repliche effettuate sulla stessa forma.

## **CONCLUSIONI**

L'uso delle tradizionali tecniche microbiologiche, affiancato dall'applicazione delle più innovative tecniche molecolari per la caratterizzazione delle colture microbiche, può contribuire ad una maggiore conoscenza della biodiversità batterica dell'ambiente, che è possibile riscontrare anche nei formaggi.

Abbiamo caratterizzato il formaggio "Nostrano di Primiero", riconoscendo uno stretto legame tra ambiente e prodotto, che ha mostrato differenze in funzione della zona di provenienza del latte, rilevate all'analisi microbiologica e molecolare.

Nei formaggi prodotti con latte proveniente da due zone geografiche separate del Parco, le forme microbiche succedutesi nel corso della maturazione erano nettamente differenziate, sia a livello di specie che a livello di ceppo. Il formaggio prodotto col latte delle malghe di Passo Rolle aveva una carica microbica totale inferiore, ma una maggiore varietà di specie e di ceppi, rispetto a quello prodotto col latte proveniente dalle malghe del Vanoi.

La caratterizzazione microbica dei ceppi diffusi in zone definite del Parco ha consentito di intervenire sulla produzione continuativa del formaggio Nostrano di Primiero, tramite l'utilizzo controllato di colture microbiche starter, oppure di integrazione, costituite dai ceppi batterici isolati nella lavorazione del latte di malga per la produzione estiva.