

INFLUENZA DELLA PROTEOLISI PRIMARIA SULLE CARATTERISTICHE REOLOGICHE E SULLA FONDIBILITÀ DEL FORMAGGIO MOLLE

Nora BERTOLA¹, Mario CANDIOTI², Alicia BEVILACQUA^{1,3}, Noemí ZARITSKY^{1,3}, Erica HYNES^{2*}.....279-294

* *Corresponding author.* Dra. Erica R. Hynes. Phone: +54 342 453 0303. E-mail address:

hynes@fiq.unl.edu.ar

¹ Centro de Investigacion y Desarrollo en Criotecología de Alimentos (UNLP-CIC-CONICET).

² Instituto de Lactología Industrial, Facultad de Ingeniería Química, UNL/CONICET, Santiago del Estero 2829, S3000AOM, Santa Fe, Argentina.

³ Facultad de Ingeniería. UNLP.

RIASSUNTO – L'Argentina risulta tra le prime dieci nazioni produttrici di formaggio a livello mondiale. Il 50% del formaggio prodotto in Argentina è di tipo molle. Il "Cremoso" argentino è un formaggio a pasta molle, non erborinato. La proteolisi primaria è il principale evento biochimico nel corso della stagionatura del formaggio Cremoso. Questo singolo evento biochimico è stato proposto come principale responsabile dello sviluppo, nel corso della stagionatura, di alcune importanti caratteristiche reologiche del formaggio. Sono state, però, fornite evidenze circa il ruolo significativo esercitato dall'equilibrio tra fase solubile e fase colloidale del calcio nell'ammorbidimento del formaggio; questi studi sono stati condotti, principalmente, su Mozzarella, Cheddar e formaggi a basso contenuto di grasso. Anche per i formaggi molli sono disponibili alcune informazioni: è stato dimostrato che l'aumento di pH è fattore determinante nell'ammorbidimento del Camembert. La fondibilità del formaggio viene definita come la facilità dello stesso a fondere, liquefarsi, sciogliersi quando sottoposto a riscaldamento; è stato suggerito che la stessa proteolisi causi l'aumento della fondibilità del formaggio col procedere della stagionatura. Nella presente ricerca, è stata valutata l'influenza dell'inattivazione dell'enzima coagulante sullo sviluppo delle caratteristiche reologiche nel corso della stagionatura del formaggio molle Cremoso. Visto che questo tipo di formaggio viene anche utilizzato nella preparazione di piatti caldi, si è studiato anche il ruolo della proteolisi sulle sue proprietà di fusione. La tecnologia di produzione del formaggio Cremoso prevede, prima della fase di coagulazione, la pastorizzazione del latte, l'aggiunta allo stesso di cloruro di calcio e, successivamente, l'impiego di uno starter composto, principalmente, da ceppi di *Streptococcus thermophilus*. Nella fase di coagulazione, i formaggi Cremoso in cui il coagulante è stato inattivato (formaggi CI) sono stati ottenuti applicando un particolare ciclo pH (aumento del pH fisiologico del latte da 6,60-6,70 a 7,80 con NaOH 0,1 N; mantenimento di questo valore per 45 minuti; successiva acidificazione a pH 6,40 con HCl 0,1 N). Il ciclo di pH è stato effettuato dopo che il latte addizionato di plasmina suina (agente coagulante) è stato mantenuto a 5°C per 60 minuti. Nella coagulazione dei formaggi di controllo (formaggi C), lo stesso ciclo di pH è stato applicato prima dell'aggiunta del coagulante. Le fasi successive del processo di caseificazione – rottura del gel, formatura, salatura e stagionatura (97 giorni) – sono state condotte con le stesse modalità per i formaggi CI e quelli C. I contenuti di umidità, grasso e proteina sono risultati non diversi tra i formaggi CI e C. L'attività residua del coagulante è risultata da 6 a 13 volte più bassa nei formaggi CI rispetto a quelli C, nel corso di tutto il periodo di stagionatura. Le differenze nel grado di proteolisi (espresse, sia dal valore del coefficiente di maturazione: $N \text{ solubile} / N \text{ totale}$, che dall'analisi dell'idrolisi della alfa₁-caseina mediante Urea-PAGE) tra i formaggi CI e quelli C sono risultate statisticamente significative (proteolisi maggiore nei formaggi C rispetto a quelli CI) fino al 30° giorno di stagionatura, in particolar modo tra il 14° e il 30° giorno di stagionatura. In questo stesso periodo di stagionatura, tuttavia, i profili reologici delle due tipologie di formaggio sono risultati simili, sebbene la curva di rilassamento e il modulo elastico abbiano evidenziato leggere differenze. Nella fase terminale della stagionatura, vale a dire tra il 60° e il 97° giorno di stagionatura, il livello di proteolisi è risultato analogo nei formaggi CI e in quelli C. Nello stesso periodo, le differenze del profilo reologico e delle curve di rilassamento tra le due tipologie di formaggi sono risultate più accentuate. In sintesi, più il livello di proteolisi è risultato simile tra i formaggi CI e quelli C, maggiori sono risultate le differenze delle proprietà reologiche (capacità di fondere compresa) tra le due tipologie di formaggi. Il pH dei formaggi CI è risultato più basso rispetto a quello dei formaggi C; le differenze sono risultate particolarmente marcate dopo il 30° giorno di stagionatura. Una possibile spiegazione è che i cicli di pH potrebbero aver influenzato la capacità tampone delle caseine in un modo diverso, a seconda che l'enzima coagulante sia stato aggiunto prima (CI) o dopo (C) i cicli pH. Ad ogni modo, indipendentemente dalla causa responsabile del fenomeno di post-acidificazione nei formaggi CI, è molto probabile che i cambiamenti delle proprietà reologiche dei formaggi siano principalmente legati all'eccessiva acidificazione della pasta e alla conseguente modificazione della capacità delle proteine, in prossimità del loro punto isoelettrico, di trattenere acqua, così come a modificazioni dell'equilibrio solubile-colloidale del calcio.

Parole chiave: formaggi molli, stagionatura, proteolisi, reologia, fondibilità

SUMMARY – In the present work, we assessed the influence of the inactivation of coagulant enzyme on texture development and melting ability of Cremoso soft cheese. We obtained coagulant-inactivated (CI) and control cheeses and ripened them for 97 days; gross composition of cheeses was similar although pH evolution showed differences between CI and control cheeses. Residual activity of coagulant enzyme was *ca.* 6 to 13- times as high in control cheeses as in CI cheeses, a difference that prevailed during ripening. Significant differences in proteolysis of control and CI

cheeses were verified up to 30 days of ripening. During this first step of ripening, however, texture profiles of the two types of cheese were similar. At the final steps of ripening, proteolysis evened out in control and CI cheeses, but differences in texture profile and relaxation curves grew bigger. These changes in texture concurred with the greatest differences in pH between control and CI cheeses. A similar trend was verified for melting ability of the cheeses. We concluded that coagulant enzyme inhibition and significant decrease of primary proteolysis were probably not the cause of changes in texture and melting ability of Cremoso soft cheese.

Keywords: soft cheese, ripening, proteolysis, rheology, meltability

Bertola *et al* (2010) *Sci Tecn Latt-Cas*, 61 (5), 279-294

UN'ANOMALIA STRUTTURALE DEL PARMIGIANO-REGGIANO: IL "GONFIORE TARDIVO"

Flavio TOSI^{1*}, Gianfranco TEDESCHI¹, Sandro SANDRI¹, Massimo MALACARNE²295-312

* *Corrispondenza ed estratti:* f.tosi@clcparma.it

¹ Centro Servizi per l'Agroalimentare, Parma. Via Torelli 17, 43123 Parma.

² Dipartimento di Produzioni Animali, Biotecnologie Veterinarie, Qualità e Sicurezza degli Alimenti. Università degli Studi. Via del Taglio 10, 43126 Parma.

RIASSUNTO – La presenza di spore del genere *Clostridium* nel latte destinato alla trasformazione in Parmigiano-Reggiano costituisce la principale causa della comparsa di alterazioni strutturali (occhi e spacchi), in questo formaggio a pasta cotta e a lunga stagionatura. La presenza di batteri sporigeni nel latte è soprattutto conseguenza del suo inquinamento durante la mungitura ed è riportabile sia alla cattiva qualità degli alimenti utilizzati (foraggi e mangimi) che alle condizioni igieniche della stalla. Il presente lavoro si propone di verificare le eventuali differenze di composizione chimica del Parmigiano-Reggiano con difetto da fermentazione butirrica rispetto a quello scelto. La composizione chimica del Parmigiano-Reggiano con gonfiore tardivo si differenzia da quella del formaggio esente da difetti per un più elevato tenore di umidità, valori di pH al centro della forma elevati rispetto al normale e una maggiore e soprattutto diversa proteolisi. Il contenuto in acido butirrico, conformemente a quanto atteso, risulta superiore al valore determinato in formaggi scelti e diversi campioni presentano valori di acido acetico e propionico superiori alla norma. Le caratteristiche fisico-strutturali e organolettiche del Parmigiano-Reggiano dipendono sia dalla qualità del latte che da una corretta tecnologia di trasformazione. I risultati della ricerca suggeriscono che lo sviluppo di questo difetto nel Parmigiano-Reggiano può essere favorito sia dalle caratteristiche microbiologiche e chimico-fisiche del latte che dall'applicazione di parametri tecnologici durante la trasformazione casearia.

Parole chiave: Parmigiano-Reggiano, gonfiore butirrico, errori tecnologici

SUMMARY – *The late blowing: a structural defect of Parmigiano-Reggiano cheese.* – Clostridia spores in milk for Parmigiano-Reggiano are the main responsible of structural defects (eyes and openings) in this hard cooked, long ripened cheese. The presence of sporigens bacteria in milk depends on its pollution during milking, the worse quality of fodders (forages and concentrates) and hygienic conditions of the cattle herd. The aim of this study is to assess possible differences in the chemical composition of Parmigiano-Reggiano cheese between wheels with late blowing defect and first grade wheels. Late blowing cheese wheels were characterised by higher moisture content, higher pH values in the inner region, higher and different proteolysis, compared to first grade cheese wheels. The contents of butyric acid, acetic acid and propionic acid resulted higher in late blowing cheese wheels than first grade wheels. The physico-structural and organoleptic characteristics of Parmigiano-Reggiano cheese depend both on the quality of milk and on the cheesemaking technology. According to the results here showed, the development of this defect in Parmigiano-Reggiano can be favoured by microbial and physico-chemical characteristics of milk and by the technologic parameters employed during cheesemaking.

Keywords: Parmigiano-Reggiano cheese, late blowing, errors in cheesemaking

CARICA BATTERICA TOTALE NEL LATTE CRUDO: PROGETTO DI UNIFICAZIONE DELLA CONVERSIONE DEI DATI IN ITALIA

Giuseppe BOLZONI^{1*}, Antonio MARCOLINI¹.....313-324

* *Corrispondenza ed estratti:* cm.qualita.latte@izsler.it

¹ Centro di Referenza Nazionale Qualità Latte Bovino. Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Lombardia e dell'Emilia Romagna. Via Bianchi 7/9, 25024 Brescia.

RIASSUNTO - Il lavoro riporta i risultati di un progetto realizzato nel corso del 2009, cui hanno aderito 22 Laboratori Italiani (13 degli Istituti Zooprofilattici, 7 delle Associazioni Regionali Allevatori e 2 Privati), finalizzato a produrre una modalità unica nazionale per la conversione dei risultati di Carica Batterica Totale nel latte crudo forniti dagli strumenti Bactoscan FC (Foss, DK), secondo quanto previsto da ISO 21187:2004 FIL 196:2004. Vengono descritti in modo sintetico gli aspetti essenziali della procedura analitica applicata e delle Norme cui essa fa riferimento, le modalità di elaborazione statistica ed i risultati ottenuti. Vengono inoltre riportati alcuni dei presupposti teorici del progetto, essenziali a comprenderne motivazioni e finalità. L'obiettivo primario del progetto è quello di migliorare significativamente l'uniformità (riproducibilità) a livello nazionale degli esiti analitici prodotti da diversi laboratori. Malgrado il parametro carica batterica totale abbia importanza sia dal punto di vista commerciale che sanitario, la sua determinazione con le più moderne strumentazioni automatiche, da oltre 20 anni, presenta notevoli difformità tra laboratori proprio in conseguenza di differenti modalità di conversione adottate. Pur trattandosi di una prima fase di lavoro, alla quale seguiranno ulteriori approfondimenti, verifiche ed eventuali correzioni, già nel 2010 l'applicazione volontaria della nuova modalità di conversione ha prodotto i primi incoraggianti risultati di miglioramento della uniformità analitica a livello nazionale.

Parole chiave: latte, carica batterica, Bactoscan FC, conversione

SUMMARY - *Total Bacterial Count in raw milk: project for the unification of conversion line in Italy.* - This paper deals with some theoretical considerations, the results and the statistical evaluation of a national project aimed at conforming the conversion system for Bactoscan FC (Foss, DK). Fifteen different Laboratories distributed in most Italian regions performed analytical examinations on raw bovine milk's samples, in application of ISO 21187:2004 FIL 196:2004. On the whole, 1,571 double results (Reference Method and Bactoscan FC) were evaluated with three different statistical approaches. The final equation resulting from the statistical analysis is the following: $\text{Log}_{10}(\text{UFC/mL}) = \text{Log}_{10}(\text{IBC}/\mu\text{L}) \times 0.911 + 2.599$ with Standard Error = 0.279. The unification of conversion lines is typically a "compromise solution" to improve the low level of reproducibility that has characterized the determination of total bacterial count with optofluorometric instruments for 25 years. Despite the very high level of instrumental performance, the past use of different conversion systems, caused relevant problems of uniformity between labs. During 2010 this suggested conversion line was applied by Labs on voluntary basis as the first step of a possible "National Conversion System".

Keywords: milk, total bacterial count, Bactoscan FC, conversion

EVOLUZIONE DEI PROFILI CHIMICO-FISICI E BIOCHIMICI DURANTE LA PREPARAZIONE DEL CAGLIO IN PASTA D'AGNELLO ARTIGIANALE: DALLA MACELLAZIONE ALLA CALDAIA

Barbara FERRI¹, Katya CARBONE^{2*}.....325-332

* *Corrispondenza ed estratti:* katya.carbone@entecra.it

¹ Università degli Studi di Perugia, Facoltà di Agraria, Dipartimento di Biologia Applicata. Borgo XX Giugno 74, 06121 Perugia.

² Consiglio per la Ricerca e Sperimentazione in Agricoltura – CRA ENC. Via della Cantina Sperimentale 1, 00049 Velletri (RM).

RIASSUNTO – Le caratteristiche sensoriali, quali gusto ed aroma, che contribuiscono alla tipicità di molti formaggi DOP e “tradizionali” del bacino del Mediterraneo sono influenzate dal corredo enzimatico del coagulante utilizzato in caldaia, in particolare dal contenuto di enzimi lipolitici in esso presenti. La presenza, la quantità e la composizione di queste proteine nel caglio in pasta risente di molti fattori, strettamente correlati alle tecniche d'allevamento e di macellazione degli animali, nonché al metodo di preparazione, stagionatura, conservazione ed utilizzazione del caglio. Nell'areale di produzione del Pecorino di Picinisco, formaggio tradizionale del Lazio, in fase di riconoscimento DOP, il caglio in pasta ovino di produzione aziendale è preparato con modalità differenti. Il presente lavoro riporta i risultati relativi all'effetto di uno dei trattamenti maggiormente impiegati, che consiste nella salatura esterna degli abomasini di agnelli lattanti e successiva asciugatura a temperatura ambiente (SA), nonché l'effetto della sua durata, sulle caratteristiche chimico-fisiche e biochimiche dei caglioli. I dati ottenuti evidenziano la tendenza al raggiungimento di un plateau per i principali parametri chimici (i.e. sostanza secca, ceneri, proteina solubile) dopo 20 giorni dall'inizio del trattamento di salatura. I profili di attività lipolitica mettono in evidenza una spiccata attività di questi coagulanti nei confronti di trigliceridi a catena corta, con un massimo di attività specifica dopo 20 giorni. L'attività lipolitica nei confronti dei trigliceridi a catena lunga risulta inferiore, con due massimi di attività a 20 e 90 giorni dal trattamento degli abomasini. I risultati ottenuti evidenziano che la tecnica illustrata produce cagli in pasta caratterizzati da valori dei parametri chimici e biochimici stabili già dopo 20 giorni dall'inizio del trattamento, nonché la possibilità di modulare le differenti attività lipolitiche del caglio in base alla durata dell'asciugatura dei caglioli stessi.

Parole chiave: Pecorino di Picinisco, caglio in pasta, attività lipolitica

SUMMARY – *Development of chemical-physical and biochemical profiles in the preparation of artisanal lamb rennet paste: from the slaughter to the vat.* – Rennet pastes produced from the abomasums of suckled small ruminants (lambs and kids) are used in the manufacturing of traditional cheeses (some of them are Protected Designation of Origin, PDO) in the Mediterranean area. Their employ gives the characteristic “piquant” flavour, mainly derived from the release of fatty acids resulting from their lipolytic enzymes. In some of the Italian traditional cheeses the used rennet pastes are artisanal products. One of these cheeses is the “Pecorino di Picinisco” (Latium traditional cheese). It has undergone the request of PDO, which regulation enforces the use of lamb rennet paste as traditional coagulant. Local traditional procedures are based on the use of a lamb or kid paste prepared and used with different methodologies. The results reported herein show the effect of the most employed traditional method used to prepare this coagulant, abomasums external salted and then air dried (SA), on the chemical, physicochemical and biochemical properties of these artisanal lamb rennet pastes. Obtained results point out how the production technique influences in a significant manner the chemical, physicochemical and lipolytic characteristics of lamb rennet during ripening. The mentioned technique give as a result a final product (the paste) with a lipolytic activity quite higher and statistically different against short-chain triglycerides than against long-chain lipids (C18). Nevertheless, SA rennet samples have a good lipolytic activity still at 20d ripening, suggesting that it is not worth extending further the ripening time. Further investigations, mainly on the proteolytic enzymes, are needed in order to confirm these first data. These aspects are the key points in the artisanal lamb rennet paste production, as the lack of standardisation of their enzymatic activities results in a large variability of the sensorial properties of cheeses. In conclusion, it could be necessary to standardise not only the diet and the slaughter conditions of the lambs, but also the rennet production technique as well as the time of ripening, in order to establish suitable rules for rennet paste production for cheeses such as some of the PDO ones (i.e. Pecorino di Picinisco).

Keywords: Pecorino di Picinisco cheese, lamb rennet paste, lipolytic activity

IL METODO CIELab PER LA CARATTERIZZAZIONE DEI PRODOTTI TRADIZIONALI

Katya CARBONE^{1*}, Barbara FERRI².....333-340

* *Corrispondenza ed estratti:* katya.carbone@entecra.it

¹ Consiglio per la Ricerca e Sperimentazione in Agricoltura – CRA ENC. Via della Cantina Sperimentale 1, 00049 Velletri (RM).

² Università degli Studi di Perugia, Facoltà di Agraria, Dipartimento di Biologia Applicata. Borgo XX Giugno 74, 06121 Perugia.

RIASSUNTO – Una forte peculiarità del settore agro-alimentare è la rivalutazione dei prodotti di nicchia, solitamente ottenuti con metodi artigianali ed utilizzando materie prime tipiche, estremamente localizzate. Fra questi, ben si colloca la Marzolina, formaggio a latte crudo di capra caratteristico dell'Italia centrale, che vede nella propria produzione tipica l'impiego di caglio in pasta di capretto, preparato ed utilizzato seguendo protocolli differenti. All'uso di questo tipo di caglio naturale si deve il sapore caratteristico piccante del formaggio, che viene consumato sia fresco che stagionato e che ne permette il riconoscimento sul mercato, salvaguardando tradizione e qualità del prodotto dall'impiego di coagulanti differenti (i.e. caglio di vitello commerciale). In questo studio si riportano i risultati relativi all'effetto dell'impiego del caglio caprino artigianale in pasta (C) rispetto all'uso di caglio liquido di vitello (V), nella produzione della Marzolina, sui principali parametri chimici e fisici, nonché sulle caratteristiche colorimetriche del formaggio. I risultati ottenuti evidenziano un effetto significativo del tipo di caglio utilizzato sulla composizione chimica dei campioni analizzati. Le Marzoline appartenenti al gruppo sperimentale C presentano valori più elevati di azoto totale, ceneri, umidità e sforzo al taglio (WBSF) ($P<0,05$) ed un tenore di sostanza grassa inferiore rispetto ai formaggi del gruppo V. Le coordinate CIELab sono risultate significativamente differenti ($P<0,05$) tra i due gruppi sperimentali, evidenziando un effetto del tipo di coagulante impiegato sul colore del formaggio. I risultati ottenuti dimostrano come la scelta del coagulante, a parità degli altri fattori tecnologici, influenzi significativamente le caratteristiche della Marzolina. Le coordinate CIELab rappresentano inoltre dei descrittori sensoriali oggettivi che correlati con i principali parametri chimici e fisici del campione possono essere utilizzati per valutare la genuinità del prodotto (in maniera "user-friendly" e soprattutto non distruttiva), salvaguardando il consumatore da imitazioni o adulterazioni dello stesso.

Parole chiave: caglio in pasta, formaggi caprini, Marzolina, analisi reologica, coordinate CIELab

SUMMARY – *The CIELab method for the characterization of traditional products.* – The aim of this study was to investigate the effects of two different coagulants on the chemical and physical parameters of Marzolina fresh cheese from raw goat's milk. The cheeses were produced according to the traditional protocol using commercial liquid calf rennet and artisanal kid's paste rennet. Significant differences ($P<0.05$) in the chemical composition were observed between the assayed samples. Physically, significant differences ($P<0.05$) in hardness (Warner-Bratzler maximum shear force; WBSF) and in colour intensity (CIELab coordinates) were observed between cheeses manufactured with the two coagulants, while the reflectance spectra were similar for both. Results highlight that the CIELab coordinates can be used as a routine control for cheese quality and/or adulteration.

Keywords: colorimetric analysis, goat cheese, kid rennet, calf rennet