

# FATTORI GESTIONALI E AMBIENTALI CHE INFLUISCONO SULLA QUALITÀ IGIENICA DEL LATTE ALLA STALLA

Luciana BAVA<sup>1\*</sup>, Anna SANDRUCCI<sup>1</sup>, Alberto TAMBURINI<sup>1</sup>, Milena BRASCA<sup>2</sup>, Laura VANONI<sup>2</sup>, Maddalena ZUCALI<sup>1</sup>.....75-84

\*.Corrispondenza ed estratti: luciana.bava@unimi.it

<sup>1</sup> Dipartimento di Scienze Animali, sezione Zootecnica agraria, Università degli Studi di Milano. Via Celoria 2, 20133 Milano.

<sup>2</sup>.CNR - Istituto di Scienze delle Produzioni Alimentari. Via Celoria 2, 20133 Milano.

**RIASSUNTO** - Il livello di contaminazione del latte misurato in termini di carica batterica standard negli ultimi anni ha mostrato valori medi sempre più contenuti e rassicuranti in Lombardia; restano però da indagare alcune criticità che si evidenziano soprattutto durante il periodo caldo in cui frequentemente tale parametro si avvicina o supera il limite legale. Anche alcuni importanti studi compiuti all'estero indicano valori di contaminazione microbica rassicuranti ma che richiedono un ulteriore miglioramento. Oltre alla valutazione della carica batterica standard alcuni autori americani suggeriscono di valutare nel latte anche le conte dei batteri termodurici, dei batteri coliformi, dei batteri psicotrofi che possono essere utili nel suggerire le possibili fonti di inquinamento. Il presente lavoro ha dimostrato che diverse possono essere le fonti di inquinamento microbico alla stalla. Un primo importante fattore è la pulizia dei ricoveri e degli animali, della mammella in particolare, che influenzano soprattutto la carica batterica del latte. Le operazioni di pre-mungitura (pre-dipping e eliminazione dei primi getti) hanno un forte effetto di riduzione della contaminazione batterica sui capezzoli e di conseguenza nel latte, soprattutto della carica batterica e degli psicotrofi. Il lavaggio dell'impianto, se eseguito in modo non corretto, in termini di temperatura della soluzione detergente e di durata, può favorire la proliferazione microbica nelle tubature e quindi l'inquinamento durante il passaggio del latte. Infine, la conservazione nei tank di stoccaggio se effettuata a temperature non corrette o per tempi prolungati, può influenzare, innalzandole, la carica batterica standard e gli psicotrofi. Solo ponendo attenzione a tutti questi fattori è possibile ottenere un miglioramento dell'igiene del latte, particolarmente importante durante il periodo estivo.

**Parole chiave:** igiene del latte, stalla, routine di mungitura, impianto di mungitura, tank di stoccaggio

**SUMMARY** - Milk hygiene at the farm: effects of management and environmental factors - The count of mesophilic bacteria in milk from dairy farms of Lombardy registered a significant contraction in the last 10 years, this important result was recorded also in many other countries but some peaks of bacterial count are still reported during the hot season. In order to identify the sources of milk contaminations at the farm, some authors suggest to consider not only the mesophilic bacteria in milk but also other groups of microorganism as coliform, laboratory pasteurization count, psychrotrophic bacteria. This paper describes the main sources of contamination of bulk tank milk at the farm. The first factor is represented by cleanliness of bedding and animals, with particular regard to cleanliness of udder of lactating cows that have pronounced effects on microbial quality of milk. Milking routine, in particular pre-milking teat dip and forestripping showed positive effects in reducing bacterial contamination of teat skin and milk in terms of standard plate count and psychrotrophic bacteria count. Milking equipment is another important source of milk contamination: inadequate cleaning procedure as low water temperature or insufficient detergent concentration can leave milk residues in the milking machine that facilitate microbial growth and cause milk contamination during the following milking. Finally milk hygiene is also influenced by the storage conditions in the tank in terms of temperature and duration that can modify the standard plate count and psychrotrophic bacteria. It is important to pay attention to the multiple sources of contamination to improve the hygiene quality of milk at farm level, in particular during summer.

**Keywords:** milk hygiene, dairy farm, milking routine, milking equipment, storage

## APPLICAZIONE DELLE TECNICHE DI PROTEOMICA NELLA CARATTERIZZAZIONE PEPTIDICA DELLA FONTINA DOP DURANTE LA STAGIONATURA

Sabina VALENTINI<sup>1\*</sup>, Laura THEDY<sup>1</sup>, Antonella SADO<sup>1</sup>, Hervé LALE MURIX<sup>1</sup>, Andrea BARMAZ<sup>1</sup> .....85-89

\* Corrispondenza ed estratti: s.valentini@iaraosta.it

<sup>1</sup> Institut Agricole Régional. Rég. La Rochère 1/A, 11100 Aosta.

**RIASSUNTO** - Le tecniche di proteomica sono un valido aiuto per comprendere meglio il fenomeno di proteolisi che avviene durante la stagionatura di un formaggio. Lo scopo di tale lavoro è stato quello di analizzare per la prima volta, mediante elettroforesi bidimensionale, l'andamento della proteolisi negli estratti acquosi di Fontina DOP a diversi stadi di stagionatura, in forme stagionate in 3 differenti grotte e in due zone della forma (sottocrosta e centro). I risultati hanno mostrato un incremento dei peptidi durante la stagionatura e, a parità di stadio di maturazione, differenze nei profili peptidici delle forme stagionate in grotte differenti.

Parole chiave: Fontina, elettroforesi bidimensionale, proteolisi, stagionatura

**SUMMARY** - A proteomic approach for the characterisation of proteolysis in Fontina cheese – Proteomic technologies are powerful tools when studying proteolysis during cheese ripening. The aim of this work was to analyse proteolysis in Fontina cheese by two dimensional electrophoresis for the first time. Tests were carried out in the aqueous phase at different ripening times, on wheels ripened in 3 different caves and in two different parts of the wheels (external and internal). The results revealed an increase in peptides during ripening and changes in peptide profiles of wheels ripened in different caves tested at the same ripening time.

Keywords: Fontina cheese, two-dimensional electrophoresis, proteolysis, ripening

Valentini *et al* (2011) *Scienza e Tecnica Lattiero-Casearia*, 62 (2), 85-89

# VALUTAZIONE DELLE CARATTERISTICHE QUALITATIVE DI BITTO E CASERA MEDIANTE TECNICHE SPETTROSCOPICHE E CHIMICHE

Laura MARINONI<sup>1\*</sup>, Lucia MONTI<sup>1</sup>, Cristina TORNIELLI<sup>1</sup>, Tiziana Maria Piera CATTANEO<sup>1</sup>.....91-98

\* Corrispondenza ed estratti: laura.marinoni@entecra.it

<sup>1</sup> CRA-FLC, Centro di ricerca per le Produzioni Foraggere e Lattiero-casearie. Via A Lombardo 11, 26900 Lodi.

**RIASSUNTO** - Bitto e Valtellina Casera sono pregiati formaggi valtellinesi a denominazione di origine protetta (DOP), rappresentativi di produzioni d'alpeggio e di pianura, rispettivamente. Entrambi sono formaggi grassi, a pasta semicotta e pressata, di consistenza semidura. Ogni anno a Morbegno (SO) si tiene la "Fiera del Bitto", dove le migliori forme vengono giudicate da un panel di valutatori esperti sulla base di caratteristiche sensoriali. Scopo del lavoro è stato correlare il punteggio sensoriale con dati ottenuti mediante spettroscopia nel vicino infrarosso (NIR) e con alcuni parametri chimici. Centoquarantuno campioni di Bitto e Casera grattugiati sono stati analizzati con spettrometro NIR a trasformata di Fourier, in riflettanza. Sono state applicate la regressione parziale ai minimi quadrati (PLSR) e la PLS discriminante (PLSD) sulla base dei parametri Aroma e "Total Sensory Score" (TSS). L'analisi PLSR ha evidenziato una soddisfacente capacità predittiva per entrambi i parametri. Applicando l'analisi PLSD, si è ottenuta una buona classificazione dei campioni in tre classi di qualità. Cinquantacinque campioni sono stati anche sottoposti ad analisi HPLC per la determinazione di acidi organici e amminoacidi liberi (FAA). Nel caso dei FAA si è evidenziata una correlazione negativa con aroma e TSS, in quanto precursori dei composti aromatici del formaggio. La concentrazione di acidi organici sembra non influire sul gradimento del prodotto.

Parole chiave: Qualità, formaggi DOP, NIR

**SUMMARY** - Evaluation of qualitative characteristics of Bitto and Valtellina Casera cheeses with spectroscopic and chemical techniques - Bitto and Valtellina Casera are protected denomination of origin (PDO) cheeses. Bitto is a mountain cheese made from cow's milk with the possible addition of small quantities of goat milk. Valtellina Casera is a low land cheese made exclusively from cow's milk. Both are fat, semi-hard, semi-cooked and pressed cheeses. Every year the best cheeses are classified by a panel of experts and awarded on the basis of sensory characteristics during the "Bitto Show" held in Morbegno (SO). The purpose of this study was to correlate the overall sensory score (Total Sensory Score-TSS) and the Taste and Flavor score with near infrared spectroscopy (NIR) data and with some chemical parameters. Bitto and Casera grated samples (#141) were analyzed four times each with a Fourier transform NIR spectrometer, in reflectance mode. Partial least squares regression (PLSR) and PLS discriminant (PLSD) were applied on averaged and meancentered data. The PLSR analysis showed a satisfactory predictive ability for both the parameter Taste and Flavor ( $r_{val} = 0.657$ ,  $RMSECV = 1.85$ ) and TSS ( $r_{val} = 0.61$ ,  $RMSECV = 6.87$ ). Applying the PLSD analysis, a good classification of samples was obtained. Fiftyfive samples were also analyzed by HPLC for the determination of free amino acids (FAA) and organic acids. In the first case, FAA content showed a negative correlation with aroma and total sensory score, since FAA are precursors of aromatic compounds of the cheese. In particular, a strong negative correlation for lysine, responsible for the bitter taste of cheese, and for some branched chain FAA (valine and leucine), the main precursors of the aroma, were observed. The concentration of organic acids does not seem to affect the rating of the product.

Keywords: Quality, PDO cheeses, NIR

# FORMAGGIO BITTO DOP: CARATTERIZZAZIONE DELLA COMPONENTE PROTEICA E DI ALCUNI METABOLITI PRODOTTI DURANTE LA MATURAZIONE

Lucia MONTI<sup>1\*</sup>, Laura MARINONI<sup>1</sup>, Francesco LOCCI<sup>1</sup>, Tiziana Maria Piera CATTANEO<sup>1</sup>.. 99-105

\* Corrispondenza ed estratti: lucia.monti@entecra.it

<sup>1</sup> CRA-FLC Settore lattiero-caseario. Via A Lombardo 11, 26900 Lodi.

**RIASSUNTO** - Il Bitto è un formaggio Valtellinese DOP, prodotto esclusivamente d'estate nelle malghe alpine, a partire da latte bovino intero crudo, con l'eventuale aggiunta di latte di capra. Le condizioni particolarmente variabili in cui avviene la caseificazione possono determinare alcune problematiche, legate alla presenza di difetti, che potrebbero essere risolte con l'introduzione di starter autoctoni (Progetto ValTec, finanziato dalla regione Lombardia). Formaggi, rappresentativi della realtà produttiva attuale, sono stati analizzati per individuare alcuni dei parametri chimici che meglio concorrono a definire le caratteristiche peculiari del Bitto e per poter successivamente evidenziare le eventuali modifiche apportate dall'impiego di uno starter selezionato. La composizione di base dei campioni (umidità, contenuto in grasso, proteine totali e ceneri, azoto non caseinico e non proteico) è stata determinata mediante metodiche ufficiali ed ha evidenziato una sostanziale corrispondenza con i requisiti del disciplinare di produzione. La caratterizzazione del profilo proteico è stata effettuata mediante elettroforesi capillare zonale e ha messo in evidenza un'azione idrolitica a carico soprattutto delle beta-caseine, in accordo con l'ipotesi di una degradazione mediata dalla plasmina e dell'alfas1-caseina, probabilmente ad opera della catepsina D. Il contenuto in amminoacidi liberi, analizzati mediante RP-HPLC, ha completato le informazioni riguardo l'andamento della proteolisi. Acido lattico e acido acetico sono risultati i principali prodotti della fermentazione microbica degli zuccheri, totalmente degradati nel prodotto finale. I campioni analizzati hanno evidenziato una elevata variabilità giustificata dalla frammentazione della produzione e da un'intrinseca complessità connessa all'elevato numero di variabili in gioco.

Parole chiave: formaggio Bitto, proteolisi, metaboliti

**SUMMARY** - PDO Bitto cheese: characterization of proteins breakdown and metabolites produced during ripening - Bitto is a PDO cheese produced in Valtellina Valley, exclusively in summer in the mountain in itinerant huts, using raw full-fat cow milk, with the possibility of adding *maximum* 10% of goat milk. The particularly variable conditions in which the cheese is produced strongly influence the natural variability of the product and are responsible of defects which can often affect the product. These problems could be overcome by the introduction of an autochthonous starter. This is the subject of a project financed by Lombardy Region (called ValTec) about the technological improvement of Valtellina Valley cheeses respecting tradition. So, the aim of this work was to improve knowledge on Bitto cheese, through the identification of chemical parameters in order to point out changes that could be attributed to the introduction of a starter. Samples of Bitto, representative of the current productive reality, were analyzed to assess their chemical composition (dry matter, fat, protein and ash content), with particular attention to protein breakdown during ripening, which can strongly influence cheese quality. Non casein and non protein nitrogen, together with free amino acids content quantitatively described proteolysis, while protein profile was qualitatively evaluated by capillary electrophoresis. An extensive hydrolysis of betacaseins into the gamma-caseins by means of plasmin was evidenced. Also alphas1-casein was highly degraded and a peak at the same migration time as alphas1-I-casein appeared probably due to the activity of another acid proteinase, namely cathepsin D. The final products of protein breakdown are free amino acids: threonine, histidine, isoleucine and glutamic acid seemed to be the most characteristic ones. No sugars left was found in the cheeses, and lactic and acetic acids were the principal products of sugar fermentation. All data showed a high variability due to the traditional technologies adopted during cheesemaking and to the different ripening time of samples.

Keywords: Bitto cheese, proteolysis, metabolites

## IDENTIFICAZIONE DI BATTERI LATTICI MEDIANTE RSA E PENTAPLEX PCR NEL SIEROINNESTO PER GRANA PADANO

Paola CREMONESI<sup>1\*</sup>, Tiziana SILVETTI<sup>2</sup>, Laura VANONI<sup>2</sup>, Stefano MORANDI<sup>2</sup>, Milena BRASCA<sup>2</sup>.....107-111

\* Corrispondenza ed estratti: cremonesi@ibba.cnr.it

<sup>1</sup> Istituto di Biologia e Biotecnologia Agraria - C.N.R., Milano (UOS-Lodi). Via Einstein, 26900 Lodi.

<sup>2</sup> Istituto di Scienze delle Produzioni Alimentari - C.N.R., (UOS-Milano). Via Celoria, 20133 Milano.

**RIASSUNTO** - I batteri lattici apportati con il sieroinnesto rappresentano un fattore determinante per l'ottenimento delle caratteristiche di tipicità di numerosi formaggi a latte crudo tra cui il Grana Padano. La determinazione della composizione microbica di tali innesti è quindi punto fondamentale per tenere sotto controllo il processo produttivo e conseguentemente le caratteristiche sensoriali e strutturali del formaggio prodotto. In questo lavoro sono state messe a confronto due metodiche analitiche per l'identificazione dei batteri lattici nel sieroinnesto: un saggio di Pentaplex PCR e l'analisi della regione polimorfica 16S-23S rDNA (RSA). Il saggio di Pentaplex PCR appositamente ottimizzato consente di identificare simultaneamente le specie termofile *Lactobacillus helveticus*, *L. delbrueckii* subsp. *lactis*, *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, *L. fermentum* e *S. thermophilus* che costituiscono la componente principale del sieroinnesto di numerose produzioni casearie di primaria importanza tra cui Grana Padano e Parmigiano-Reggiano. L'analisi RSA, invece, viene comunemente utilizzata per una rapida identificazione di isolati batterici; l'amplificazione della regione target ipervariabile consente la formazione di amplificati specifici per particolari gruppi batterici. In entrambi i casi il protocollo operativo ha previsto l'amplificazione del DNA totale estratto direttamente dal sieroinnesto. Con i due metodi sono stati analizzati 35 sieroinnesti per Grana Padano raccolti nel periodo compreso tra gennaio ed aprile 2010 provenienti da due caseifici localizzati in Lombardia. I risultati ottenuti con la Pentaplex PCR hanno mostrato in tutti i sieroinnesti analizzati la presenza di *L. helveticus* e *L. delbrueckii* subsp. *lactis*. *S. thermophilus* e *L. fermentum* sono invece stati riscontrati rispettivamente in 13 (37,1%) e 15 (42,8%) campioni analizzati. Nessun sieroinnesto è risultato positivo per *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*. L'analisi RSA non ha consentito l'individuazione delle specie bastoncellari presenti in associazione nel siero. Tuttavia, è stato possibile rilevare la presenza di *S. thermophilus* in 13 sieroinnesti, confermando i risultati ottenuti con la Pentaplex PCR.

Parole chiave: batteri lattici, Grana Padano, sieroinnesti, Pentaplex PCR, RSA

**SUMMARY** - Lactic acid bacteria identification by RSA and Pentaplex PCR in Grana Padano whey starter – Lactic acid bacteria present in whey starter are a key factor for obtaining typical raw milk cheeses such as Grana Padano. Determination of microbial composition of natural whey starter is therefore an important point to control the production process and consequently to achieve the typical and appreciated sensory characteristics of cheese. In this work we have compared two analytical methods for LAB identification in whey starter culture: a Pentaplex PCR assay and the analysis of 16S-23S rDNA polymorphic region (RSA). The Pentaplex PCR was optimized to identify simultaneously *Lactobacillus helveticus*, *L. delbrueckii* subsp. *lactis*, *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, *L. fermentum* and *S. thermophilus*, that constitute the main component of whey starter in dairy products such as Grana Padano and Parmigiano-Reggiano. The analysis of RSA is commonly used for rapid identification of bacterial isolates; the amplification of this hypervariable region allows specific amplifications for particular bacterial groups. In both cases, the protocol provides for the amplification of total DNA extracted directly from whey starter. In this work, 35 whey starter for Grana Padano, collected during the period between January and April 2010 from two dairy farms located in Lombardy, were analyzed. The results obtained with the Pentaplex PCR showed the presence of *L. helveticus* and *L. delbrueckii* subsp. *lactis* in all the whey starter analyzed. *S. thermophilus* and *L. fermentum* were found respectively in 13 (37.1%) and 15 (42.8%) samples analyzed. No whey starter culture was positive for *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*. The RSA analysis did not allow the identification of the different rod-shaped species present in association the whey starters. However, it was possible to detect in 13 samples the presence of *S. thermophilus*, confirming the results obtained with the Pentaplex-PCR.

Keywords: lactic acid bacteria, Grana Padano, whey starter, pentaplex PCR, RSA

## “TOMA DEL LAIT BRUSC”: QUALITÀ IGIENICO SANITARIA E VERIFICA DEL PROCESSO PRODUTTIVO

Daniela Manila BIANCHI<sup>1\*</sup>, Silvia GALLINA<sup>1</sup>, Alberto BELLIO<sup>1</sup>, Valentina GRASSO<sup>1</sup>, Nadia CIVALLERI<sup>1</sup>, Lucia DECASTELLI<sup>1</sup>.....113-117

\* Corrispondenza ed estratti: manila.bianchi@izsto.it

<sup>1</sup> Istituto Zooprofilattico Sperimentale Piemonte, Liguria e Valle d'Aosta. Via Bologna 148, 10154 Torino.

RIASSUNTO - Al fine di verificare la qualità igienico-sanitaria e valutare il processo produttivo della Toma del lait brusc sono stati campionati 8 lotti di produzione provenienti da 3 diverse Aziende Agricole. Le prime fasi di produzione si sono dimostrate maggiormente critiche in quanto si verifica un innalzamento del numero di microrganismi indicatori di igiene (*E. coli*, Enterobatteri, Stafilococchi coagulasi positivi). La lunga stagionatura (90 giorni) e la presenza di alte cariche di batteri lattici favoriscono la graduale diminuzione dei microrganismi indicatori di igiene. La Toma del lait brusc è risultata un prodotto di buona qualità igienicosanitaria in quanto tutti i campioni analizzati rispettano i criteri di sicurezza alimentare previsti dal Regolamento CE 2073/2005 e modifiche.

Parole chiave: latte, qualità, tecnologia

SUMMARY - “Toma del lait brusc”: Food Hygiene during the producing process – In order to check the hygiene standards and to verify the producing process of “Toma del lait brusc” 8 batches from 3 different producers were collected and analyzed for microbial criteria. The first steps of production have been shown to be more critical because there is a rise in the number of indicator microorganisms for hygiene (*E. coli*, Enterobacteriaceae, Coagulase positive Staphylococci). The long maturation period (90 days) and the presence of high number of lactic bacteria promote the gradual reduction of indicator microorganisms for hygiene. “Toma del Lait brusc” proved to be a product of good health quality as all samples respect food safety criteria of the Regulation EC 2073/2005 and changes.

Keywords: milk, quality, technology

Bianchi *et al* (2011) *Scienza e Tecnica Lattiero-Casaria*, 62 (2), 113-117

## STAFILOCOCCI COAGULASI POSITIVI IN PRODOTTI LATTIEROCASEARI: PRESENZA DI CEPPI PRODUTTORI DI TOSSINE O POTENZIALMENTE TALI

Daniela Manila BIANCHI<sup>1,2\*</sup>, Silvia GALLINA<sup>1,2</sup>, Chiara NOGAROL<sup>1</sup>, Giulia CAZZANIGA<sup>1</sup>, Tiziana BRUNETTO<sup>1</sup>, Lucia DECASTELLI<sup>1,2</sup>...119-123

\* Corrispondenza ed estratti: manila.bianchi@izsto.it

<sup>1</sup> Istituto Zooprofilattico Sperimentale Piemonte, Liguria e Valle d'Aosta. Via Bologna 148, 10154 Torino.

<sup>2</sup> Laboratorio Nazionale di Riferimento per gli Stafilococchi coagulasi positivi, IZS PLV. Via Bologna 148, 10154 Torino.

**RIASSUNTO** - Alcuni stafilococchi coagulasi positivi, compreso *S.aureus*, sono produttori di enterotossine (SEs) in grado di causare malattie alimentari con sintomi a rapida insorgenza in seguito a ingestione. Attualmente sono stati identificati 21 tipi di SEs e la loro ricerca in prodotti lattiero-caseari è stata inclusa tra i criteri di igiene dal Reg CE 2073/2005. Il metodo ufficiale per la loro determinazione nelle matrici alimentari è lo European screening method; attualmente nessun metodo ufficiale è previsto per la rilevazione di enterotossine prodotte *in vitro*. Il presente lavoro è stato condotto al fine di valutare la potenzialità enterotossigena dei ceppi di *S. aureus* isolati da prodotti lattiero-caseari. Sono state messe a confronto due metodiche, un test ELISA per la ricerca delle SEs da A ad E e due protocolli in Multiplex PCR per la determinazione di alcuni dei geni codificanti le SEs. I risultati ottenuti permettono una valutazione sull'impiego associato delle due metodiche: uno screening dei ceppi mediante PCR e la conferma della capacità produttiva mediante ELISA.

Parole chiave: latte, qualità, tecnologia

**SUMMARY** - Coagulase positive *Staphylococci* in dairy products: presence of potentially enterotoxic strains – Some coagulase positive strains, including *S. aureus*, are able to produce enterotoxins (SEs) stable to heat treatment and to the action of digestive enzymes like pepsin. The aim of this study was to compare two different methods for enterotoxic *S. aureus in vitro* characterization. One hundred eight *S. aureus* strains was isolated from foods and tested with ELISA method able to detect toxins type A to E in culture medium and PCR protocols able to detect the presence of genes (*sea* to *see*; *seg* to *sej*; *sep*; *ser*) encoding for staphylococcal enterotoxins. 25 strains came out positive with ELISA: every one of them have at least one encoding gene for the SEs detected with the immunoenzymatic kit. 44% of negative ELISA strains resulted to have at least one encoding gene.

Keywords: milk, quality, technology

## VALUTAZIONE DELLA RESISTENZA TERMICA E DELLA SOPRAVVIVENZA DI *PROTOTHECA ZOPFII* (GENOTYPE 2) IN FORMAGGI BOVINI A LATTE CRUDO

Maria Luisa SCATASSA<sup>1\*</sup>, Luigi ARCURI<sup>2</sup>, Anna CARROZZO<sup>1</sup>, Isabella MANCUSO<sup>1</sup>.....125-129

\* Corrispondenza ed estratti: tel. 0916565300; luisa.scatassa@izssicilia.it

<sup>1</sup> Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Sicilia "A Mirri". Via G Marinuzzi 3, 90129 Palermo.

<sup>2</sup> ASP 6. Via Carmelo Onorato 6, 90129 Palermo.

**RIASSUNTO** - *P. zopfii* è un'alga unicellulare diffusa nell'ambiente in grado di causare mastite nella specie bovina con notevoli danni economici. L'alga rappresenta un rischio per la salute umana per la sua resistenza alle terapie convenzionali. La segnalazione di un caso di enterite associato al consumo di formaggio contaminato da *P. zopfii* e il ritrovamento del patogeno in una azienda bovina siciliana hanno indotto ad indagare sugli aspetti di sicurezza alimentare legati alla presenza e/o persistenza di *Prototheca* nel latte e nei derivati. Si è valutata la sopravvivenza dell'alga dopo pastorizzazione del latte a 75°C per 15 secondi ed a 65°C per 30 minuti e nel corso del processo produttivo di formaggi a latte crudo. Sono state eseguite 10 prove termiche e 10 caseificazioni sperimentali. La crescita di *P. zopfii* è stata inibita dalla pastorizzazione a 75°C per 15 secondi mentre la temperatura più bassa (65°C per 30 minuti) non è stata efficace nei campioni di latte che presentavano concentrazioni più elevate (10<sup>5</sup> UFC/mL). Durante i processi di caseificazione sono stati esaminati latte, cagliata e formaggi dopo 1, 7 e 30 giorni di maturazione. L'alga è stata sempre ritrovata nel latte e nella cagliata e nei formaggi di 7 processi produttivi su 10; le variabilità fra le varie sperimentazioni non sono risultate collegate né alla concentrazione iniziale di *Prototheca* nel latte né alle altre flore microbiche indagate. Sono in corso ulteriori studi considerando che la presenza di *Prototheca* viva e vitale nei prodotti lattiero caseari potrebbe rappresentare un mezzo di trasmissione del patogeno all'uomo.

Parole chiave: latte, pastorizzazione, formaggio bovino a latte crudo, *Prototheca zopfii*, sicurezza alimentare

**SUMMARY** - Evaluation of the presence of *Prototheca zopfii* (genotype 2) in cheeses obtained from pasteurized and raw milk – *Prototheca zopfii* is an environmental agent of bovine mastitis, causing serious economic losses as a result of decreased milk yield and culling of infected animals. It also represents a hazard to public health and shows high resistance to conventional therapy. A case of human enteritis associated with the consumption of fresh cheese contaminated with *P. zopfii* was reported in Brazil. Recently, the pathogen was isolated during a *P. zopfii* outbreak of clinical bovine mastitis in Sicily. The purpose of this study is to evaluate the susceptibility of *Prototheca* to pasteurized milk and to investigate the ability of the cheese-making techniques to influence the survival of the alga. Ten milk samples were subjected to different temperature/time ratios: 72°C/15 seconds and 65°C/30 minutes and ten experimental cheese-making processes were carried out by naturally infected raw milk. Milk samples (algae concentration between 3x10<sup>3</sup> and 5.5x10<sup>5</sup> UFC/mL) were pasteurized. At the ratio 72°C/15 seconds they resulted negative; at 65°C/30 minutes four samples contents *P. zopfii* at high concentration resulted resistant. During the cheesemaking processes, milk, curd and cheese checked at intervals of 1, 7 and 30 days of ripening were analysed to verify *Prototheca* and pathogenic microflora load. Our results showed always the *Prototheca* presence in milk and curd and in 7 out of 10 cheese samples. Under these experimental conditions it could be concluded that the cheese making process can't eliminate *P. zopfii* in cheese. The resistance of *Prototheca* after thermal treatment presents a problem for milk as well as for other dairy products. Contamination with *Prototheca* spp. represents a potential risk to transmit this pathogen to humans.

Keywords: milk, pasteurization, raw milk cheese, *Prototheca zopfii*, food safety



## GLI IDROCARBURI: NUOVI ALLEATI PER LA TRACCIABILITÀ DEI FORMAGGI DI MONTAGNA

Giovanna CONTARINI<sup>1\*</sup>, Milena POVOLO<sup>1</sup>, Valeria PELIZZOLA<sup>1</sup>, Alessandra GORLIER<sup>2</sup>, Efsio PIANO<sup>1</sup>..131-138

\* Corrispondenza ed estratti: giovanna.contarini@entecra.it

<sup>1</sup> CRA - Centro di Ricerca per le Produzioni Foraggere e Lattiero-Casearie. Via A Lombardo 11, 26900 Lodi.

<sup>2</sup> Università di Torino - Dipartimento di Agronomia, Selvicoltura e Gestione del Territorio. Via L Da Vinci 44, 10095 Grugliasco (TO).

**RIASSUNTO** - La certificazione di origine dei formaggi di montagna, ancora oggi prodotti con metodi tradizionali, attraverso la definizione delle loro caratteristiche di tipicità è un prerequisito per garantire la loro autenticità e aumentarne il valore. Molti studi sono stati effettuati per individuare marcatori endogeni che vengono trasferiti direttamente nel latte, senza subire modificazioni chimiche dovute ai processi digestivi e metabolici degli animali. I composti volatili terpenoidici sono stati ampiamente studiati nel latte e nel formaggio prodotto da animali al pascolo e sono stati spesso riconosciuti come marcatori biochimici di origine. In un lavoro precedente, gli idrocarburi non volatili hanno dimostrato di essere in grado di discriminare tra il latte ottenuto da animali al pascolo e il latte prodotto da vacche in allevamento intensivo, alimentate con insilati e concentrati. Poiché la frazione idrocarburica del latte di montagna è particolarmente ricca di idrocarburi lineari e fiteni, in questo lavoro è stata verificata la possibile influenza di vari tipi di vegetazione sulla concentrazione di questi composti presenti nei formaggi. Sono state quindi studiate due tipiche produzioni casearie d'alpeggio: Asiago d'Allevio e Toma Piemontese. Per entrambi i processi di filiera i formaggi sono stati prodotti con il latte di due gruppi di animali alimentati su diverse formazioni vegetazionali: festuceto pingue (P) e festuceto magro (M) per l'Asiago d'Allevio, festuceto (F) e trifoglieto (T) per la Toma Piemontese. I risultati ottenuti hanno consentito di individuare, in due successive annate di produzione, un differente rapporto di concentrazione tra alcuni dei costituenti della frazione idrocarburica, strettamente correlato alla diversa composizione botanica delle *facies*. In particolare il rapporto 1-fitene/2-fitene ha mostrato capacità discriminante tra i due gruppi di Asiago d'Allevio, mentre per la Toma Piemontese il rapporto tra due idrocarburi lineari nonacosano (C29) e eptacosano (C27) è risultato più efficace per differenziare le due tipologie di formaggio.

Parole chiave: tracciabilità, idrocarburi, *facies* vegetazionale, formaggio

**SUMMARY** - Hydrocarbons: new tools for the traceability of mountain cheeses – The certification of the origin of the mountain cheeses, still produced by traditional methods, through their typical characteristics is a prerequisite to guarantee their authenticity and to increase their value. Several studies have been carried out to detect endogenous markers that are directly transferred into milk, without chemical modifications due to the digestive and metabolic processes of the animals. Volatile terpenoidic compounds were widely investigated in milk and cheese produced by cows grazing on pasture, and they were often recognized as biochemical markers of origin. In a previous work the non-volatile hydrocarbon fraction showed to be able to discriminate between milk from animals feeding on pasture, and milk produced from cows under intensive breeding, fed with concentrates and silages. Since the hydrocarbon fraction of mountain milk is particularly rich in linear hydrocarbons and phytene, in this work it was investigated whether the concentration of these compounds in cheese could be affected by different types of mountain pasture. Two typical alpine dairy productions were studied: Asiago d'Allevio and Toma Piemontese. For both productions, the cheeses were obtained from milk of two groups of animals fed on different vegetation types: rich fescue (P) and poor fescue (M) for Asiago d'Allevio; red fescue (F) and alpine clover (T) for Toma Piemontese. The hydrocarbon fraction was separated from the cheese lipid matrix by silica gel column chromatography and analyzed by GC/MS. The results obtained allowed to identify, throughout two years of experimentation, a different relationship between the concentration of some constituents of the hydrocarbon fraction, which was closely related to the different botanical composition of the vegetation types. In particular, the ratio 1-phytene/2-phytene allowed a good discrimination between the two groups of the Asiago d'Allevio cheese, while the ratio between nonacosane (C29) and heptacosane (C27) was more effective to differentiate the two groups of Toma Piemontese cheese.

Keywords: traceability, hydrocarbons, vegetation types, cheese

## EFFETTI DELL'INTRODUZIONE DI INNESTO SELEZIONATO DI MICRORGANISMI CASEARI AUTOCTONI SULLE CARATTERISTICHE DEL FORMAGGIO DOP BITTO

Milena BRASCA<sup>1</sup>, Milena POVOLO<sup>2\*</sup>, Luigi PASSOLUNGO<sup>2</sup>, Stefano MORANDI<sup>1</sup>, Selene ERINI<sup>3</sup>, Roberta LODI<sup>1</sup>..131-138

\* Corrispondenza ed estratti: milena.povolo@entecra.it

<sup>1</sup> CNR – Istituto di SPA, Sez. Milano. Via Celoria 2, 20133 Milano.

<sup>2</sup> CRA – Centro di Ricerca per le Produzioni Foraggere e Lattiero-Casearie. Via A. Lombardo 11, 26900 Lodi.

<sup>3</sup> Consorzio Tutela Valtellina Casera e Bitto. Via Bormio 26, 23100 Sondrio.

**RIASSUNTO** - Questo lavoro nasce dall'esigenza di approfondire la conoscenza della microflora autoctona del latte destinato alla produzione di Bitto allo scopo di disporre di uno starter che consenta di migliorare la produzione riducendo l'incidenza di difetti. Il Bitto è un formaggio DOP lombardo prodotto in malghe prevalentemente della provincia di Sondrio, nel solo periodo estivo. Dalle cagliate prodotte in quattro malghe sono stati isolati 97 ceppi di batteri lattici, tra i quali sono stati scelti quelli con cui formulare due miscele starter, a differente capacità acidificante, successivamente testate nella produzione di Bitto. I formaggi ottenuti sono stati sottoposti al giudizio della giuria di assaggiatori e alle analisi relative alla composizione chimica e della frazione volatile. Le medesime determinazioni sono state condotte anche su 45 Bitto in concorso all'annuale Mostra di Morbegno. I prodotti ottenuti con l'impiego dello starter hanno mostrato valori dei parametri considerati che rientrano nei ranges ottenuti dai Bitto in concorso, dimostrando come l'impiego delle miscele non comporti modifiche nelle caratteristiche del prodotto. Inoltre, i formaggi delle lavorazioni sperimentali sono risultati distinguibili tra loro, dimostrando come, nonostante l'impiego delle stesse miscele di fermenti, l'identità di ciascuna realtà produttiva risulti comunque preservata.

**Parole chiave:** Bitto DOP, fermenti autoctoni, microbiologia, composizione chimica, frazione volatile

**SUMMARY** - Effects of the adoption of selected autochthonous dairy bacteria as starter on the Bitto PDO cheese characteristics – The research originates from the need to improve our knowledge of the autochthonous microflora of milk used for the production of Bitto cheese in order to have a starter that could improve the production and reduce the occurrence of defects. Bitto is a PDO cheese from Lombardia region, produced only during the summer period in the alpine area, mainly in the province of Sondrio. Ninety seven strains of lactic acid bacteria were isolated from curds obtained from milk coming from four area in the Alps. Three strains were selected to make two starter mixtures, with different acidification ability, subsequently tested in the Bitto production. Cheeses obtained were evaluated by a panel of assessors and analysed for their chemical and volatile fraction composition. The same determinations were carried out on 45 Bitto cheeses sampled from among those participating in an exhibition that takes place in Morbegno (Sondrio province) every year. Considering the above parameters, the cheeses obtained with the use of starters showed values that fall within the ranges obtained for Bitto cheese, showing that the use of starter mixture does not affect the characteristics of the product. Moreover, it was possible to distinguish among the experimental cheeses according to the producer: this result shows that, despite the use of the same starters, the identity of each producer remains preserved.

**Keywords:** Bitto PDO, autochthonous microorganisms, chemical composition, volatile fraction