

FORAGGI E QUALITÀ DEL LATTE DESTINATO ALLA TRASFORMAZIONE IN PARMIGIANO-REGGIANO

Andrea FORMIGONI^{1*}, Alberto PALMONARI¹, Nico BROGNA¹, Marco NOCETTI², Paola VECCHIA³, Mauro PECORARI⁴119-137

* *Corrispondenza ed estratti:* andrea.formigoni@unibo.it

¹ DIMORFIPA. Via Tolara di Sopra 50, 40100 Ozzano Emilia, Bologna.

² Consorzio del Parmigiano-Reggiano. Via Kennedy 18, 42124 Reggio Emilia.

³ Centro Ricerche Produzioni Animali. Corso Garibaldi 42, 42124 Reggio Emilia.

⁴ Università Cattolica del Sacro Cuore, Piacenza. Via Emilia Parmense 84, 29100 Piacenza.

RIASSUNTO – La copertura delle imponenti esigenze nutritive delle bovine da latte a elevata produzione, impone la massima attenzione nella scelta dei foraggi da includere nelle razioni; essi, infatti, svolgono un ruolo insostituibile nel promuovere la masticazione, l'efficienza motoria e fermentativa del rumine e il benessere delle bovine. Di conseguenza, la produzione di foraggi di alta qualità è un obiettivo di primaria importanza per mantenere ottimi risultati in termini di produzione e di qualità del latte, in particolare nell'area del Parmigiano-Reggiano, dove l'uso di insilati nella dieta è proibito. Poter disporre di foraggi altamente fermentescibili consente di ridurre l'impiego di concentrati, incrementando il benessere dell'animale. Il disciplinare del Parmigiano-Reggiano fissa il contenuto minimo di foraggi nella dieta al 50% della sostanza secca. Per questo la qualità dei foraggi è il punto chiave da raggiungere per formulare una dieta di alto livello. Le analisi di laboratorio sono quindi necessarie per stimare i parametri qualitativi, tipicamente definiti come frazioni fibrose e proteiche, unitamente alla digeribilità ruminale della fibra *in vitro*. Questa è inversamente correlata alla quota di lignina, definita come componente indigeribile. La produzione di lignina dipende da diversi fattori, ma è fisiologicamente correlata allo stress e alla maturità della pianta. Queste considerazioni sono state verificate da uno studio effettuato presso il DIMORFIPA riguardante parcelle di medica sfalciate a differenti stadi di maturazione. Partendo da queste evidenze è possibile ancora una volta asserire che la scelta del momento di taglio è fondamentale per la produzione di foraggi di alta qualità. All'interno del rumine, l'utilizzo di foraggi fermentescibili permette al nutrizionista di alimentare i batteri ruminali con una quota maggiore di carboidrati, facilitando la crescita microbica e quindi la produzione di proteina batterica. Un altro importante effetto è la possibilità di ridurre la quota di concentrati, con effetti positivi sulla fisiologia ruminale e le dinamiche di pH. La fibra comunque non è l'unica componente importante nella dieta, che deve essere formulata e ottimizzata anche per la quota di amidi e proteine. Entrambe le componenti vengono utilizzate dai batteri per moltiplicarsi; in particolare, la proteina batterica viene utilizzata direttamente dall'animale, ma per essere composta necessita di azoto proveniente dalla dieta. Inoltre, è possibile manipolare la quota proteica e la sua composizione amminoacidica utilizzabile dall'animale, inserendo nella dieta alimenti *by-pass*. Non ci sono limiti minimi per la quota di amidi nella dieta, ma è comunque importante non eccedere nell'uso per evitare l'insorgenza di patologie come l'acidosi ruminale. In ogni caso l'amido è la fonte energetica primaria per diverse specie batteriche, ed è correlato alla produzione di caseina. Questo lavoro vuole sottolineare che è possibile formulare una dieta basata sui foraggi, quando si dispone di foraggi di alta qualità. Questo obiettivo è raggiungibile agendo su diversi fattori, come la genetica della pianta, selezionando la migliore varietà a disposizione, lo stadio di maturazione della pianta stessa per individuare il corretto momento per sfalciare, e il sistema di raccolta, che deve essere volto a preservare la totalità della pianta, per non perdere alcune componenti, come le foglie di medica, che presentano un elevato valore nutrizionale.

Parole chiave: Parmigiano-Reggiano, maturità dell'erba medica, digeribilità della NDF, qualità del latte

SUMMARY – *Forages and milk quality for Parmigiano-Reggiano cheese production.* – Coverage of the requirements in high productive dairy cows demands attention in forage choice. Chewing, rumen digestion and motility, and animal health are typically some of their main roles, which cannot be replaced by any other feed. Thus, high quality forage production is a main goal to maintain milk quality and production, in particular in the Parmigiano-Reggiano area, where the use of any kind of silage is prohibited. Being able to use highly fermentable forages in the ration, should limit concentrates utilization improving animal welfare. Parmigiano-Reggiano regulation fixes the minimum amount of forages in the ration, which is 50% of the dry matter. Because of this, forage quality is the key point to reach in order to formulate a good diet. Laboratory analysis are needed to estimate these parameters, usually defined as protein and fibrous fraction, united with *in vitro* digestibility of the forage. Fiber digestibility is inversely correlated to the amount of lignin, defined as the indigestible fraction. Lignin production depends on various factors, but is physiologically related to stresses and maturity. These considerations were underlined by the study made at the DIMORFIPA on alfalfa harvested at three different stages of maturity. Based on these characteristics, it is possible to assess that choosing the right moment to harvest forages, and in particular alfalfa, is one of the main goals for farmers. In the rumen, using fermentable forages allows the nutritionist to feed rumen bacteria with more carbohydrates, letting them to grow faster and produce more microbial protein. Another effect is the chance to reduce the amount of concentrates in the diets, obtaining more benefits for the ruminal physiology and its pH dynamics. Fiber is not the only component in the diet, which must be formulated and corrected for the starch and protein amount. Both of them are used by rumen bacteria to grow. Microbial protein is used by the animal, but to be created it requires nitrogen from the diet. Moreover, it is possible to manipulate the protein amount and amino acids composition that can be used by the animal, thanks to several *by-pass* feeds. There are no basal limits for the starch requirement in the diet, so it is important to use the right amount of this sugar to avoid acidosis or other problems. Besides, starch is the main source of energy for several rumen

bacteria, and is related to the production of casein. This work wants to underline the chance to formulated a forage – based diet, since these are good quality forages. Several parameters must be reached to obtain a highly fermentable fiber, as the variety chosen, maturity stage of plants at the harvesting and method of forage drying, which must reduce losses of plant fraction such as leaves.

Keywords: Parmigiano-Reggiano cheese, alfalfa maturity, NDF digestibility, milk quality

Formigoni *et al* (2010) *Sci Tecn Latt-Cas*, 61 (3), 119-137

STUDIO DEL PROFILO MICROBICO DEL FORMAGGIO SEMUDA E CARATTERIZZAZIONE GENOTIPICA, FENOTIPICA E TECNOLOGICA DEI BATTERI LATTICI ISOLATI

Stefano MORANDI¹, Milena BRASCA^{1*}, Roberta LODI¹....139-152

* *Corrispondenza ed estratti:* milena.brasca@cnr.it

¹ CNR-ISPA, Istituto di Scienze delle Produzioni Alimentari. Via Caloria 2, 20133 Milano.

RIASSUNTO – La Semuda è un formaggio a latte crudo tradizionale lombardo prodotto nell'alto Lario occidentale (provincia di Como). In questo lavoro è stata valutata la composizione della microflora lattica autoctona a fine stagionatura di questo formaggio. Settantotto ceppi di batteri lattici (LAB) sono stati identificati utilizzando PCR specie-specifica ed il sequenziamento di una porzione del gene 16SrRNA. I ceppi sono stati tipizzati geneticamente mediante RAPD-PCR e caratterizzati in base a caratteristiche culturali e tecnologiche, quali attività acidificante e attività caseinolitica. Le specie predominanti sono risultate *Enterococcus faecalis*, *Lactobacillus paracasei* subsp. *paracasei* e *Lb. plantarum*. Tra gli isolati 3 ceppi, appartenenti al genere *Enterococcus*, sono risultati produttori enterocina A e P.
Parole chiave: formaggio Semuda, batteri lattici, RAPD-PCR

SUMMARY – *Microbial profile of Semuda cheese and genotypic, phenotypic and technological characterization of indigenous lactic acid bacteria.* – Semuda is a cheese produced in a restricted Italian alpine area (north of Como lake). The aim of the research was to study the characteristics of the indigenous lactic acid bacteria (LAB) population. A total of 78 LAB strains were isolated from ripened cheese and identified using species-specific primers and 16SrRNA gene sequencing. Randomly amplified polymorphic DNA (RAPD) analysis was used to evaluate the genotypic diversity, while technological properties of major interest for cheese-making (acidification and caseinolytic activity) were also evaluated. The predominant species, were *Enterococcus faecalis*, *Lactobacillus paracasei* subsp. *paracasei* and *Lb. plantarum*. Three bacteriocin producers were found belonging to *Eenterococcus* spp. and enterocin A and P genes were detected.

Keywords: Semuda cheese, lactic acid bacteria, RAPD-PCR

Morandi *et al* (2010) *Sci Tecn Latt-Cas*, 61 (3), 139-152

INDAGINE PRELIMINARE SULLE CARATTERISTICHE MICROBIOLOGICHE E CHIMICO-FISICHE DEL PECORINO DI FARINDOLA

Maria SCHIRONE^{1*}, Rosanna TOFALO¹, Giovanni ANGELOZZI¹, Aldo CORSETTI¹, Giovanna SUZZI¹.....153-170
* *Corrispondenza ed estratti*: mschirone@unite.it

¹ Dipartimento di Scienze degli Alimenti - Università degli Studi di Teramo. Via CR Lerici 1, 64023 Mosciano S. Angelo (TE).

RIASSUNTO – Il Pecorino di Farindola, tipico della regione Abruzzo, è un formaggio tradizionale ottenuto da latte crudo ovino a cui si aggiunge il caglio di suino, quale sistema coagulante. Viene prodotto in caseifici di piccole e medie dimensioni seguendo un apposito disciplinare di produzione. I microrganismi naturalmente presenti nel latte crudo e derivanti dall'ambiente di trasformazione sono responsabili del processo di caseificazione. Non sono noti studi scientifici mirati ad una caratterizzazione microbiologica e chimico-fisica di tale prodotto; pertanto, lo studio è stato condotto su 10 campioni di formaggio a 90 giorni di stagionatura provenienti da 10 diversi caseifici artigianali con lo scopo di ottenere informazioni, sia di interesse tecnologico, che di sicurezza igienico-sanitaria. Mediante l'impiego di opportuni substrati sono state eseguite le conte della CMA, degli enterococchi, delle *Enterobacteriaceae*, dei lattobacilli, dei lattococchi e dei lieviti. Non è stata rilevata in nessun campione la presenza di microrganismi patogeni. I valori di pH sono compresi tra 5,11 e 5,70, la % di NaCl tra 2,8 e 4,5 e la sostanza secca tra 50 e 80%. I contenuti in proteina grezza e in lipidi totali sono compresi tra 17,9-26,8%, e 20,8-45,3% rispettivamente. È stato, inoltre, valutato il contenuto in CLA 9cis,11trans, molecole con importanti proprietà funzionali e in amine biogene. La tiramina è risultata presente in tutti i campioni esaminati e in concentrazioni anche molto elevate. La notevole variabilità osservata tra i campioni probabilmente è da attribuirsi alla diversa applicazione del protocollo di produzione.

Parole chiave: Pecorino di Farindola, regione Abruzzo, latte crudo ovino, caglio di maiale, amine biogene, CLA

SUMMARY - *A preliminary evaluation of microbiological and physico-chemical characteristics of Pecorino di Farindola cheese.* – Pecorino di Farindola is a traditional cheese produced in Abruzzo region, from raw ewe's milk by farmers on a small scale using a specific protocol of production. The milk coagulation is obtained by pig rennet paste and the ripening process is performed only by the indigenous microbiota present in the milk and in the environment. This study was undertaken to achieve information about microbiological and physico-chemical characteristics of this product, since literature data are lacking. Ten different cheese samples, produced in 10 different factories, and ripened for 90 days were evaluated. Aerobic mesophilic counts, enterococci, enterobacteria, lactococci, lactobacilli, coagulase-negative staphylococci and yeasts were determined, by using classical plate counting on specific media. All the samples were characterized by the absence of pathogens at the time of the evaluation. pH values ranged from 5.11 to 5.70, NaCl content from 2.8 to 4.5% and dry matter from 50 to 80%. The concentration of protein and fat varied among samples as well; in particular, protein ranged from 17.9 to 26.8%, and fat from 20.8 to 45.3%. With the aim to preliminarily evaluate the content of molecules with putative impact on the consumer health, cis9,trans11 CLA was shown to occur in all the samples examined while tyramine resulted the biogenic amine represented at the highest concentration in all the cheeses. By evaluating the overall cheese characteristics a high variability among samples was observed, probably related to a different application of the same production protocol as one can aspect in artisan level cheese-making.

Keywords: Pecorino di Farindola cheese, Abruzzo region, raw ovine milk, pig rennet, biogenic amines, CLA

VARIAZIONE GENETICA DELLE LATTOPROTEINE IN RAZZE OVINE ITALIANE: NUOVE CONOSCENZE

Anna Maria CAROLI^{1*}, Stefania CHESSA².....171-177

* *Corrispondenza ed estratti:* caroli@med.unibs.it

¹ Dipartimento di Scienze Biomediche e Biotecnologie, Università degli Studi. Viale Europa 11, 25123 Brescia.

² IBBA-CNR. Via Bassini 15, 20133 Milano.

RIASSUNTO – Nell’ultimo decennio, è stato dato un nuovo impulso alle ricerche sui polimorfismo genetici lattoproteici ovini; questo ha portato alla descrizione e caratterizzazione di ulteriore variazione genetica. Finora, è disponibile in letteratura la caratterizzazione molecolare di 3 varianti (A, B e C) di beta-lattoglobulina, 7 varianti (A, C’, C”, D, E, H, I) di alfa_{s1}-caseina (*CSN1S1*) e 2 varianti (A e B) di alfa_{s2}-caseina (*CSN1S2*). La presente rassegna focalizza l’attenzione sulle varianti genetiche e sulle mutazioni puntiformi più recentemente identificate e caratterizzate nella specie ovina, in particolare a livello di alfa_{s1}, alfa_{s2} e betacaseina. Si può concludere che le lattoproteine ovine richiedono una maggiore attenzione da parte dei ricercatori, non solo per una miglior conoscenza della variabilità genetica che le caratterizza, ma anche per le possibili implicazioni e ricadute in campo operativo.

Parole chiave: lattoproteine, ovini, polimorfismo genetico

SUMMARY – *Genetic variation at the ovine milk proteins in Italian ovine breeds: new knowledge.* – Genetic polymorphism is an important source of variation affecting both the qualitative and quantitative protein variation. An interesting and quite complex protein pattern was found also for ovine milk. A new impulse was given to this subject recently, with the description and characterization of further genetic variation. A total of 3 variants (A, B and C) of beta-lactoglobulin, 7 variants (A, C’, C”, D, E, H, I) of alpha_{s1}-casein (*CSN1S1*), and 2 variants (A and B) of alpha_{s2}-casein (*CSN1S2*) have been clearly established until now. As for the more recently identified casein variants, some details need to be highlighted. The absence of exon 8 was found for *CSN1S1**H, this aberration being caused by a genomic deletion across the exon-8 DNA. Sequencing of *CSN1S1* cDNA and mature protein showed the absence of exon 7 from *CSN1S1**I in comparison with the C” variant. This allelic aberration is correlated with a sequence difference in 5’ splice donor sequence of intron 7, leading to upstream skipping of exon 7. The *CSN1S2**B variant, first observed in the Italian Gentile di Puglia breed, differs from the most common A variant for two amino acid exchanges: Asp₇₅→Tyr₇₅ and Ile₁₀₅→Val₁₀₅. The first substitution, resulting in a loss of a negative charge, is responsible for the higher isoelectric point of the B protein variant, which allows its detection by isoelectric focusing (IEF). Since the Asp₇₅→Tyr₇₅ substitution modifies the protein electric charge, milk properties may result affected to some extent. Moreover, different single nucleotide polymorphisms (SNP) were identified at *CSN1S1*, beta-casein (*CSN2*), and kappa-CN (*CSN3*), all resulting in amino acid exchanges. More recently, further polymorphisms were found at *CSN2* with a silent mutation in the triplet coding for Gln₁₉₂, and a C to A transversion responsible for the amino acids exchange Leu₁₉₆→Ile₁₉₆. In addition, an undescribed *CSN1S2* variant was characterized by two linked mutations: a C to G transversion, responsible for the aminoacid exchange Asn₂₀₀→Lys₂₀₀ and a T to A transversion at the 14th nucleotide of the 16th exon. The ovine milk proteins deserve a bigger attention that has to be directed to: i) completely characterizing the newly identified polymorphisms in order to establish the genetic variants carrying the mutation/s; ii) monitoring the genetic variation available in the different Italian breeds; iii) understanding of the functional meaning of the SNPs, deletions, and genetic variants described.

Keywords: milk proteins, sheep, genetic polymorphism