

PIACENTINU ENNESE: STATO DELL'ARTE

Stefania CARPINO^{1*}, Laura TUMINELLO¹, Teresa RAPISARDA¹, Giuseppe LICITRA^{1,2}187-217

* *Corrispondenza ed estratti:* carpino@corfilac.it

¹ Consorzio Ricerca Filiera Lattiero Casearia (CoRFiLaC), Regione Siciliana. SP 25 km 5, 97100 Ragusa – Mare (RG).

² DACPA – Università di Catania. Via Valdisavoia 5, 95123 Catania.

RIASSUNTO - Il Piacentinu Ennese è un formaggio tradizionale siciliano ottenuto con latte ovino intero crudo e caratterizzato dall'aggiunta di pepe nero in grani e di zafferano; le spezie utilizzate conferiscono al formaggio un colore giallo intenso e peculiari proprietà sensoriali e salutistiche. Lo scopo della presente indagine è stato di censire il tipo di produzione che veniva utilizzata nelle aziende prese a campione per valutare tutte le caratteristiche chimiche e sensoriali dei formaggi prodotti in modo tradizionale e industriale con latte crudo e latte pastorizzato. Presso ciascuna azienda è stato effettuato un rilievo tecnologico e sono state monitorate le singole fasi di ciascun processo di caseificazione del Piacentinu Ennese. È stato quindi eseguito uno studio comparato relativo alle tecnologie di caseificazione tradizionale e industriale e i formaggi prodotti nelle prove sperimentali sono stati analizzati. I formaggi ottenuti nelle aziende censite sono stati stagionati per 2, 4 e 6 mesi rispettivamente e su questi formaggi opportunamente campionati sono state effettuate analisi chimico fisiche, analisi olfattometriche (GCO) ed analisi sensoriali per valutare l'effetto della tecnologia di produzione sulla qualità del prodotto. L'analisi della composizione chimica, pH, solidi totali, azoto totale, frazioni proteiche, sale, grasso e acidi grassi liberi, al tempo 2-4-6 mesi, ha fornito indicazioni sull'andamento della stagionatura. Nessuna variazione significativa si è avuta dal confronto dei risultati medi delle due tecnologie. La maturazione ha, invece, avuto un effetto marcato sulla qualità chimico-sensoriale dei formaggi ottenuti. In particolare, il rapporto tra la quantità di acidi grassi liberi tra i formaggi prodotti con latte pastorizzato e quelli prodotti con latte crudo è di 1:3. Il Piacentinu Ennese prodotto con latte crudo, secondo tecnologia "tradizionale" presentava un profilo sensoriale di maggiore intensità, rispetto al Piacentinu Ennese prodotto con latte pastorizzato, secondo tecnologia "industriale". Le differenze più evidenti tra i profili delle due tipologie di formaggio riguardavano l'aspetto aromatico che risultava essere più intenso e caratteristico nei campioni a latte crudo prodotto in modo tradizionale. Dai risultati ottenuti, si deduce che il Piacentinu Ennese prodotto con latte crudo e quindi in modo tradizionale, presenta un profilo aromatico più ricco rispetto ai formaggi a latte pastorizzato. Questi risultati sono in accordo con precedenti studi effettuati su formaggi a latte crudo e pastorizzato che evidenziano come la microflora endogena del latte crudo porti ad una maggiore produzione di molecole aromatiche. Le tecniche di estrazione utilizzate (HS-SPME e RAS) hanno condotto a risultati simili; infatti, in entrambi i casi, alcune classi chimiche come esteri, composti zolfo e terpeni sono state maggiormente riscontrate nei campioni a latte crudo. I due studi effettuati hanno mostrato come il formaggio a 4 mesi sia più ricco in composti aromatici rispetto ai 2 e ai 6 mesi. Tale periodo di stagionatura può essere, pertanto, identificato come il periodo migliore, specialmente dal punto di vista aromatico, per la stagionatura del formaggio Piacentinu Ennese.

Parole chiave: Piacentinu Ennese, GCO, analisi sensoriale

SUMMARY – *Piacentinu Ennese cheese: state of art.* - "Piacentinu Ennese" is a traditional Sicilian cheese obtained by raw ewe milk, adding black pepper grains and saffron; these spices contribute to the deep yellow colour and healthy and sensorial- properties of the cheese. The aim of this study was to investigate the cheese making technology used by each farm, chosen randomly, and to analyse the cheeses produced from raw and pasteurised milk by traditional or industrial technologies for chemical and sensorial parameters. In each farm the cheese making processes of Piacentinu Ennese have been checked, followed step by step, and recorded. A comparative study on traditional and industrial cheese making technologies has been performed and both cheese samples obtained have been analysed. The cheeses obtained from each farm have been aged for 2, 4, 6 months respectively. Chemical, olfactometric (GCO) and sensory analysis have been performed on aged cheese samples to evaluate the effect of cheese making technology on food quality. The data for chemical composition, pH, total solids (TS), total nitrogen, protein fractions, salts, fat and free fatty acids have given info on trend of cheese aging. No significative change has been observed between the two different technologies. The aging process have had a big effect on cheese quality. In particular, the ratio between free fatty acids content in pasteurised milk cheese and raw milk cheese was 1:3. The two kind of "Piacentinu Ennese" cheeses obtained from raw milk, following traditional technology, and from pasteurised milk, following industrial technology, resulted in quite different and easily distinctive sensory profiles. The biggest differences between the two cheese typologies were found in aroma profile with typical and more odorous components in raw milk cheese obtained by traditional way. These results were in according to previous studies that showed how endogen microflora in raw milk is responsible of the abundant aroma component development. Same results have been obtained by two different extraction methods (HSSPME e RAS); in fact, in both cases, the cheese samples by raw milk showed a major content of some compounds including esters, sulphurous compounds and terpenes. In both studies the cheese samples, aged 4 months, were richer in aroma compounds compared to those of 2 and 6 months-old. Thus, 4 months may be considered the best aging time for "Piacentinu Ennese" cheese, especially for the aroma profile.

Keywords: Piacentinu Ennese cheese, GCO, sensory analysis

CONTENUTO IN SPORE DI CLOSTRIDI NELLE FECI DI VACCHE DA LATTE NEL COMPENSORIO DEL PARMIGIANO-REGGIANO: EFFETTO DI TALUNI FATTORI ALIMENTARI

Paolo BANI^{1*}, Andrea MINUTI¹, Luigi CALAMARI¹, Giuseppe BERTONI¹....219-237

* *Corrispondenza ed estratti:* paolo.bani@unicatt.it

¹ Istituto di Zootecnica, Facoltà di Agraria. Via Emilia Parmense 84, 29122 Piacenza.

RIASSUNTO – *Clostridium tyrobutyricum* è responsabile di gravi difetti a carico di formaggi a lunga stagionatura quali il Parmigiano-Reggiano. Diverse evidenze scientifiche suggeriscono che il maggior grado di contaminazione di spore butirriche nelle feci delle bovine da latte in confronto a quella degli alimenti non consegue alla loro semplice concentrazione nel materiale fecale indigerito ma che, invece, esse possono aumentare nel tratto digerente. E' stata svolta una prova nel periodo primaverile di due anni consecutivi (2003 e 2004) in complessivi 12 allevamenti di bovine da latte della provincia di Parma, rappresentativi delle principali tipologie aziendali presenti. Nel primo anno sono state poste a confronto due terne di aziende che differivano soprattutto per una diversa (alta=AC o bassa=BC) percentuale di concentrati nelle razioni adottate per le bovine in lattazione. Nel secondo anno le indagini sono state condotte su 6 aziende che impiegavano elevate quantità di concentrato ma che si differenziavano per la modalità di somministrazione degli alimenti: distribuzione separata di foraggio e concentrato (TRAD) oppure tecnica unifeed (UNIF). I controlli hanno riguardato le razioni (caratteristiche chimico nutrizionali e loro contenuto in spore di *Clostridium tyrobutyricum*), la produzione di latte e le feci (SS, pH e contenuto in spore, consistenza e presenza di fibra indigerita) prelevate da 9 animali per azienda (3 a 30-60, 3 a 80-120 e 3 a 150-200 giorni di lattazione) per ogni azienda. Le principali caratteristiche delle razioni delle due terne di aziende del primo anno sono state le seguenti: UFL 0,77 vs 0,85/kg SS, PG 14,67 vs 15,89% SS; amido 11,60 vs 19,26% SS; rapporto F:C 74:26 vs 56:44, rispettivamente per le tesi BC e AC. Per il secondo anno: UFL 0,86 vs 0,88/kg SS, PG 15,34 vs 15,66% SS; amido 18,80 vs 20,40% SS; rapporto F:C 55:45 vs 55:45, rispettivamente per le tesi TRAD e UNIF. I risultati relativi al primo anno di sperimentazione hanno posto in evidenza ripercussioni significative del tipo di razione sui processi digestivi nel grosso intestino (feci più umide e con un pH più basso nel gruppo AC), ma senza ripercussione significativa della dose di concentrati impiegata sull'incremento di spore nelle feci (Coefficiente di aumento razione-feci: CARF), pari a circa 1,38 per entrambe le tesi e indicatore di un loro aumento durante il transito lungo il canale alimentare. Nel secondo anno di controlli nelle aziende con alimentazione unifeed si sono riscontrate feci meno umide e con un pH inferiore. Il CARF è risultato analogo nei due gruppi di aziende (1,49 vs 1,64, rispettivamente per TRAD e UNIF). Positiva e significativa è risultata la correlazione tra i valori medi aziendali di CARF con il contenuto in amido delle diete (0,84, P<0,05) ma non con la concentrazione teorica di spore nella sostanza secca alimentare indigeribile calcolata nell'ipotesi di un non aumento delle spore nel digerente (r=0,71, P>0,10). Significativa è risultata anche la correlazione, negativa, tra CARF riferito alle singole bovine e pH fecale (r = -0,33, P<0,02). Nel complesso dei dati relativi a tutte le 12 aziende controllate nei due anni la relazione tra CARF e amido della razione è risultata invece prossima alla significatività (r=0,48, P=0,11) e limitando l'analisi alle 9 aziende che utilizzavano più elevate dosi di concentrato tale coefficiente risulta pari a 0,60 (P<0,10) e tendenzialmente significativa risulta anche la relazione tra CARF e pH fecale (r=-0,58, P= 0,10). Il calcolo delle regressioni multiple conferma il pH delle feci e il contenuto in amido delle razioni come fattori significativamente (P<0,01) influenti sul CARF. Nel complesso, risulta che l'escrezione fecale di spore butirriche eccede la quantità ingerita anche nel caso di razioni imperniate sull'esclusivo impiego di alimenti secchi, e che tale incremento non si discosta molto da quello riscontrato con razioni basate sull'impiego di foraggi insilati, apportatori non solo di spore butirriche ma anche di forme vegetative degli stessi batteri. L'aumento della quota di carboidrati fermentescibili, in particolare di amido, pare essere un fattore di rischio per un aumento delle spore butirriche nel digerente delle bovine da latte. La tecnica unifeed non pare costituire, di per sé, un fattore in grado di aumentare la contaminazione butirrica delle feci. Ulteriori ricerche sono necessarie per meglio definire in quali porzioni del digerente può avere luogo la moltiplicazione butirrica e i fattori biochimici che la condizionano.

Parole chiave: *Clostridium tyrobutyricum*, spore, feci, alimentazione, vacche da latte

SUMMARY – *Butyric spores content in dairy cattle faeces in the Parmigiano-Reggiano district: effect of some dietary factors.* – *Clostridium tyrobutyricum* is responsible for main defects in long ripening cheese like Parmigiano-Reggiano. Data from literature show that a multiplication of spores can take place in the digestive tract of dairy cows. A two years trial was carried out. In the first year 3 dairy farms feeding low amount (BC) vs 3 feeding high amount (AC) of concentrate were compared; in the second year 3 farms feeding hay and concentrate separately (TRAD) vs 3 farms adopting TMR feeding technique (UNIF) were compared. Dairy farms were controlled for main diets features and faeces were taken from 9 cows at different stages of lactation per farm and analyzed for dry matter, pH, *Clostridium tyrobutyricum* spores content and, only in the second year, faeces consistency and presence of undigested long particles. In the first year main diets features were: MFU 0.77 vs 0.85/kg DM; CP 14.67 vs 15.89% DM; Starch 11.60 vs 19.26% DM; F:C ratio 74:26 vs 56:44, respectively for the BC e AC groups. In the second year they were MFU 0.86 vs 0.88/kg DM; CP 15.34 vs 15.66% DM; Starch 18.80 vs 20.40% DM; F:C ratio 55:45 vs 55:45, for TRAD e UNIF groups, respectively. The amount of concentrate fed to cows (1st year trial) influenced the characteristics of the faeces (lower DM content and pH in AC group) but not the coefficient of spores increase faeces vs feeds (CARF), that was as

high as 1.38 in both groups, pointing out an increase in the number of *clostridia* spores along the digestive tract. In the 2nd year the faeces from UNIF cows had lower pH and DM content. The CARF was not affected by the feeding technique (1.49 vs 1.64 for TRAD and UNIF respectively, NS), but farms mean CARF values were positively correlated to the dietary starch content ($r=0.84$, $P<0.05$) but not to the expected spores concentration in the undigested DM calculated assuming that spores do not increase in the alimentary tract. ($r=0.71$, ns). CARF calculated for all the cows was correlated to faecal pH ($r = - 0.33$, $P<0.02$). When evaluated on the 12 mean farms values from the two years controls, correlation between CARF and starch in the diets was not significant ($r=0.48$, $P=0.11$) but when calculated excluding the 3 farms using low amount of concentrate it became tendentially significant ($r=0.60$, $P<0.10$). In this situation, the CARF was also tendentially correlated with mean faecal pH ($r=-0.58$, $P<0.10$). Multiple regressions confirmed significant ($P<0.01$) effects of faecal pH and dietary starch on CARF. Cows' faecal excretion of spores exceeded the amount ingested with the rations and, although the diets were based on dry feeds only, the CARF was quite similar to that one found in dairy farms feeding silages, that contain butyric vegetative cells besides spores. High amount of fermentable carbohydrates, starch in particular, in the diet seem to be a risk factor for an increase of the butyric spores in the alimentary tract of dairy cows. Feeding diets as TMR instead of the traditional separate meals of dry forages and concentrates does not appear to increase, per se, the risk of butyric spores contamination of the faeces. Further research are needed to better elucidate at what level of the digestive tract the butyric multiplication takes place and the biochemical factors affecting it.

Keywords: *Clostridium tyrobutyricum*, spores, faeces, feeding, dairy cows

ATTIVITA' ANTIMICROBICA E INCIDENZA DI GENI CODIFICANTI PER ENTEROCINE IN ENTEROCOCCHI ISOLATI DA PRODOTTI LATTIERO-CASEARI DEL NORD ITALIA

Stefano MORANDI^{1*}, Milena BRASCA¹, Tiziana SILVETTI¹, Pilar CALO-MATA², Jorge BARROS-VELÁZQUEZ², Roberta LODI¹.....239-250

* *Corrispondenza degli estratti*: stefano.morandi@ispa.cnr.it

¹ CNR, Istituto di Scienze delle Produzioni Alimentari, Sede di Milano. Via Celoria 2, 20133 Milano.

² Universidad de Santiago de Compostela, Laboratorio de Higiene, Inspección y Control de Alimentos (LHICA), Facultad de Veterinaria, Pabellón 4, Planta Baja, 27002, Lugo (Spagna).

RIASSUNTO – Gli enterococchi sono microrganismi comunemente presenti nei prodotti caseari a latte crudo e contribuiscono positivamente alla definizione delle loro caratteristiche organolettiche. Lo scopo principale di questo lavoro é stato quello di valutare l'attività inibente di enterococchi provenienti da prodotti lattiero-caseari del nord Italia nei confronti di *Listeria monocytogenes* e *Staphylococcus aureus*. Quarantatre ceppi su 434 (10%), appartenenti alle specie *Enterococcus durans*, *E. faecalis* ed *E. faecium*, sono risultati in grado di inibire *L. monocytogenes* e/o *S. aureus*. Le reazioni di PCR hanno evidenziato che fra i ceppi appartenenti alla specie *E. durans* sono ampiamente diffusi i geni codificanti per enterocina P e batteriocina 31, mentre in *E. faecium* prevalgono i geni *entP* ed *entA*. Nella specie *E. faecalis*, la quasi totalità dei ceppi ha evidenziato la presenza del gene *entAS-48*. In un ceppo di *E. faecalis* si é riscontrata la presenza dell'enterocina Q, mai rilevata prima in isolati provenienti dal comparto lattiero-caseario.

SUMMARY – *Evaluation of antimicrobial activity and enterocins genes in enterococci isolated from north italian dairy products.* – Enterococci are common constituents of dairy products such as raw milk cheeses, in which it is believed that they contribute to the development of some of their organoleptic properties. A total of 434 enterococci, isolated from dairy products were screened for the production of antimicrobial peptides against *L. monocytogenes* and *S. aureus*. Enterocins production was detected in 43 strains (10%), belonging to the species *E. durans*, *E. faecalis* and *E. faecium*. Investigation of enterocin genes by PCR amplification revealed the presence of *entP* and *bac31* genes among *E. durans* isolates, whereas a high incidence of *entP* and *entA* genes was detected in *E. faecium* strains. The structural genes of enterocin AS-48 was widely distributed among *E. faecalis* isolates. In addition, a strain belonging to *E. faecalis* species harboured the *entQ* gene, whose presence was no previously reported in enterococci isolated from dairy products.

LA TINA DI LEGNO COSTITUISCE UN IMPORTANTE SISTEMA NATURALE DI INOCULAZIONE DEL LATTE, NELL'AMBITO DEL PROCESSO DI CASEIFICAZIONE DEL PIACENTINU ENNESE

Laura TUMINELLO¹, Stefania CARPINO^{1*}, Patrizia CAMPO¹, Giuseppe LICITRA^{1,2}.....251-263

* *Corrispondenza ed estratti:* carpino@corfilac.it

¹ Consorzio Ricerca Filiera Lattiero Casearia (CoRFiLaC), Regione Siciliana. SP 25 km 5, 97100 Ragusa – Mare (RG).

² DACPA – Università di Catania. Via Valdisavoia 5, 95123 Catania.

RIASSUNTO - Il Piacentinu Ennese è un formaggio tradizionale siciliano, prodotto con latte ovino intero crudo e caratterizzato dall'aggiunta di pepe nero in grani e di zafferano; le spezie utilizzate conferiscono al formaggio un colore giallo intenso e peculiari proprietà sensoriali e salutistiche. Lo scopo della presente indagine è stato dimostrare che la tina di legno, utilizzata nel processo di caseificazione di questo formaggio, svolge un ruolo unico ed impareggiabile di innesto naturale. E' stato eseguito uno studio comparato del biofilm presente sulla superficie interna di una tina di legno e di una rame, entrambe destinate alla produzione sperimentale di Piacentinu Ennese, secondo la tradizionale tecnologia di produzione. E' stata analizzata la composizione microbica del biofilm e la capacità di rilascio del biofilm dalle due tine al latte sterile. I risultati ottenuti hanno evidenziato differenze significative tra la tina di legno e la tina di rame. E' stato dimostrato che la tina di legno è lo strumento ideale che favorisce lo sviluppo di un ricco biofilm microbico e una elevata capacità di rilascio di microflora batterica dal biofilm al latte. Dopo pochi minuti di contatto con la superficie interna della tina di legno, il latte ha ricevuto dal biofilm una elevata carica batterica costituita prevalentemente da batteri lattici; ciò ha dimostrato la straordinaria efficienza della tina di legno come naturale sistema di inoculazione del latte.

Parole chiave: Piacentinu Ennese, tina di legno, biofilm microbico, sistema di innesto naturale

SUMMARY – *The wooden vat acts as an important natural inoculation system of the milk, in the cheese making process of the Piacentinu Ennese cheese.* – Piacentinu ennese is a traditional Sicilian cheese made using whole raw ewes' milk and characterized by the addition of black peppercorns and saffron; the used spices give the cheese a deep yellow colour and peculiar sensory and health properties. The aim of the present study was to demonstrate that the wooden vat, used in the cheese making process of this cheese, acts as a unique and incomparable natural inoculation system. A comparative study of the biofilm fixed on the inner surface of a wooden and copper vat was carried out; both vats were used in an experimental production of Piacentinu Ennese cheese, according to the traditional technology. The biofilm microbial composition and the release capacity of microflora from the biofilm to the sterile milk were analyzed. The obtained results showed significant differences between wooden and copper vat. The wooden vat was shown to be the ideal tool that supports the growth of a rich microbial biofilm and a high release capacity of bacterial microflora from the biofilm to the milk. After few minutes of contact with the inner surface of the wooden tina, the milk received from the biofilm a high bacterial charge mainly constituted by lactic bacteria; that showed the extraordinary efficiency of the wooden vat as natural inoculation system of the milk.

Keywords: Piacentinu Ennese cheese, wooden vat, microbial biofilm, natural inoculation system

DEFINIZIONE DELL'ORIGINE DI FORMAGGI DI ALPEGGIO MEDIANTE RETI NEURALI ARTIFICIALI

Giuseppe ZEPPA^{1*}, Manuela GIORDANO¹, Simona BELVISO¹265-274

* *Corrispondenza ed estratti:* giuseppe.zeppa@unito.it

¹ Microbiologia Agraria e Tecnologie Alimentari - Dipartimento di Valorizzazione e Protezione delle Risorse Agroforestali - Università degli Studi di Torino. Via Leonardo da Vinci 44, 10095 Grugliasco (TO).

RIASSUNTO – Le Reti Neurali Artificiali o Artificial Neural Network (ANN) sono particolari strutture matematiche che mediante un approccio connessionistico consentono di risolvere problemi non affrontabili con l'informatica di tipo tradizionale. Sono quindi ampiamente utilizzate in molte discipline scientifiche per eseguire quei compiti per i quali non sono disponibili modelli matematici o tali modelli, se esistono, presentano una complessità eccessiva che li rende inutilizzabili. Lo scopo di questo studio è stato quello di valutare la possibilità di utilizzare delle ANNs nella tracciabilità di formaggi di alpeggio provenienti da differenti formazioni pascolive alpine. In particolare le ANNs sono state applicate alla componente terpenica valutata mediante HS-SPME-GC/MS di formaggi provenienti da quattro aree pascolive alpine, due nel Veneto e due nel Piemonte. I risultati ottenuti applicando quattro tipologie di ANN hanno evidenziato come sia possibile mediante la componente terpenica, nonostante la sua variabilità intrinseca, ed un sistema di calcolo "dinamico" quale le ANNs, discriminare i prodotti e costruire un modello esportabile ed utilizzabile nel controllo di origine dei prodotti.

Parole chiave: Reti Neurali Artificiali, formaggio, terpeni

SUMMARY – *Origin discrimination of mountain cheeses by means of Artificial Neural Networks.* – Artificial Neural Networks (ANNs) are mathematical structures that can solve with a connectionist approach problems without solution on traditional informatics. Are therefore widely used in many scientific fields where there are no mathematical models or these models, if any, have an excessive complexity that makes them unusable. The purpose of this study was to evaluate the using of ANNs in the traceability of alpine cheeses obtained in different alpine highlands. In particular, ANNs have been applied to terpene component evaluated by HS-SPME-GC/MS of cheeses from Alpine pastures of four areas, two in the Veneto region and two in the Piedmont region. The results obtained applying four types of ANNs showed that it is possible through terpenic profile, despite its variability, and a "dynamic" system as the ANNs, discriminate against products and build an exportable model useful in the control of origin

Keywords: Artificial Neural Network, cheese, terpenes

Zeppa *et al* (2010) *Sci Tecn Latt-Cas*, 61 (4), 265-274