

# SILTER: STARTER AUTOCTONI E TIPICITÀ



Quaderni della Ricerca  
n. 156 - settembre 2013



UNIVERSITÀ  
DEGLI STUDI  
DI MILANO



Regione Lombardia  
Agricoltura

Sperimentazione condotta nell'ambito del progetto di ricerca n. 1752 "Valorizzazione tecnologica dei microrganismi autoctoni del formaggio Silter (VALTEMAS)" finanziato con il Programma Regionale di ricerca in campo agricolo 2010-2012 di Regione Lombardia.

**Hanno realizzato le attività sperimentali:**

Centro Interdipartimentale di Studi Applicati per la Gestione Sostenibile e la Difesa della  
Montagna - Università degli Studi di Milano (GeSDiMont-UNIMI)

Via G. Celoria 2 20133 Milano Tel 02 50316471 fax 02 50316486

Via Morino 8 25048 Edolo (BS) Tel e Fax 0364 71324

Referente: Ivano De Noni e-mail [ivano.denoni@unimi.it](mailto:ivano.denoni@unimi.it)

Istituto di Scienze delle Produzioni Alimentari del Consiglio Nazionale delle Ricerche (CNR-ISPA)

Via Giovanni Celoria 2 20133 Milano (MI) Tel 02 50316685 fax 02 50316687

Referente: Milena Brasca e-mail [milena.brasca@ispa.cnr.it](mailto:milena.brasca@ispa.cnr.it)

Comunità Montane di Valle Camonica e del Sebino Bresciano

Piazza F. Tassara 3 25043 Breno (BS) Tel 0364 324011 fax 0364 22629

Via Roma 41 25057 Sale Marasino (BS) Tel 030 986314 fax 030 9820900

Referente: Alessandro Putelli e-mail [alessandro.putelli@cmvallecamonica.bs.it](mailto:alessandro.putelli@cmvallecamonica.bs.it)

Centro per il Miglioramento Qualitativo del Latte e della Carne Bovina di Brescia (CMLECB)

Via A. Bianchi 9 25124 Brescia Tel 030 2290250 e fax 030 2290571

Referente: Oliviero Sisti e-mail [olisisti@tin.it](mailto:olisisti@tin.it)

**Responsabile scientifico: prof. Ivano De Noni**

**Testi a cura di:**

Ivano De Noni, Milena Brasca, Giovanna Battelli, Stefano Cattaneo, Marilù Decimo, Fabio Masotti,  
Stefano Morandi, Luisa Pellegrino, Alessandro Ranghetti,  
Tiziana Silveti, Milda Stuknyte

**Foto a cura di:**

Ivano De Noni, Oliviero Sisti

**Per Informazioni:**

Regione Lombardia - Direzione Generale Agricoltura  
U.O. Sviluppo di Innovazione, cooperazione e valore delle produzioni

Struttura Sviluppo, Promozione delle Produzioni,

Ricerca, Innovazione Tecnologica e Servizi alle Imprese

Piazza Città di Lombardia n.1 - 20124 Milano

Tel: +39.02.6765.3790 fax +39.02.6765.8056

e-mail: [agri\\_ricerca@regione.lombardia.it](mailto:agri_ricerca@regione.lombardia.it)

Referente: Elena Brugna, Giovanna Praderio

**© Copyright Regione Lombardia**



**Regione Lombardia**  
Agricoltura



MILANO 2015



**UNIVERSITÀ  
DEGLI STUDI  
DI MILANO**



# **SILTER: STARTER AUTOCTONI E TIPICITÀ**

*Quaderni della Ricerca  
n. 156 - settembre 2013*



## Presentazione

La trasformazione del latte in formaggio rappresenta uno dei più forti motivi di radicazione della zootecnia in montagna. In questo territorio, la filiera lattiero-casearia di tipo tradizionale è probabilmente il sistema produttivo agro-alimentare più integralmente legato al luogo in cui si realizza. La concomitanza di più fattori quali le razze allevate, la qualità del latte, le tecniche di caseificazione e stagionatura, permette di conferire al formaggio di montagna il tratto distintivo della tipicità, che si esplicita in particolari caratteristiche qualitative e sensoriali. Il legame tra territorio e qualità delle produzioni alimentari rappresenta quindi il cardine attorno al quale ruota il tema della tutela e salvaguardia dei formaggi di montagna. Peraltro, queste linee d'indirizzo riflettono quelle di precedenti progetti a sostegno di questo comparto sviluppati in collaborazione con l'Assessorato regionale. Nello stesso tempo, supportano gli obiettivi delle politiche dell'Unione Europea e di EXPO 2015, mirati a sostenere lo sviluppo e la valorizzazione delle produzioni agroalimentari tradizionali.

In Valle Camonica e nel Sebino Bresciano la produzione di formaggio Silter assume per questo un ruolo determinante per il mantenimento del reddito, la salvaguardia dell'ambiente e la promozione del territorio. La tutela del Silter passa anche attraverso attività di ricerca mirate al miglioramento del processo produttivo nel rispetto della tradizione. A questo obiettivo è stata finalizzata l'attività di ricerca del Progetto "Valorizzazione tecnologica dei microrganismi autoctoni del formaggio Silter – VALTEMAS"; Progetto che ha voluto valorizzare e conservare la "biodiversità microbica" del Silter mediante lo studio e lo sviluppo di starter autoctoni da utilizzare nel processo di produzione di questo formaggio. Infatti, i presupposti essenziali per la definizione delle caratteristiche di specificità del Silter sono determinati soprattutto dalla corretta impostazione, in termini caseari, della "biodiversità microbica" del latte crudo di partenza. Da questo punto di vista, le produzioni casearie di montagna possono presentare criticità ancora irrisolte che incidono fortemente sulla qualità e redditività delle produzioni. I risultati della sperimentazione, raccolti in questo Quaderno della Ricerca, hanno permesso di fornire ai produttori di Silter starter autoctoni con costi sostenibili e caratteristiche tecnologiche tali da garantire la riduzione dei difetti e il mantenimento delle caratteristiche tipiche del Silter. In questo senso, i risultati del Progetto forniscono anche una caratterizzazione analitica del Silter capace di evidenziarne la tipicità come insieme di caratteristiche ritrovabili in questo formaggio in conseguenza della collocazione geografica di fabbricazione. In definitiva, i risultati del Progetto potranno costituire un efficace strumento per la qualificazione territoriale del Silter e un valido supporto per la valorizzazione e la promozione di filiera lattiero-casearia camuna.

Direzione Generale Agricoltura  
Regione Lombardia



## Sommario

1	Introduzione.....	6
2	Il Progetto VALTEMAS.....	9
3	FASE I - Preparazione industriale degli starter autoctoni.....	10
4	FASE II - Caseificazioni sperimentali con starter autoctoni liofilizzati.....	12
	4.1 Caseificazioni sperimentali.....	12
	4.2 Valutazione delle proprietà tecnologiche degli starter liofilizzati.....	16
	4.3 Determinazione delle caratteristiche chimiche e microbiologiche di latte, cagliate e formaggi delle lavorazioni sperimentali.....	17
	4.4 Evoluzione del microbiota durante la maturazione del formaggio.....	23
	4.5 Studio dell'evoluzione dei fenomeni maturativi del formaggio.....	28
	4.6 Studio delle sostanze organiche volatili presenti nel grasso del formaggio..	33
	4.7 Test di assaggio dei formaggi.....	35
5	FASE III - Sperimentazione della miscela 5 presso undici caseifici .....	39
	5.1 Studio dell'evoluzione dei fenomeni maturativi del formaggio.....	41
6	FASE IV – Effetto del tipo di stagionatura sulle caratteristiche del formaggio.....	48
7	FASE V – Sperimentazione della miscela 5 in alpeggio.....	53
8	Analisi costi-benefici.....	58
9	Conclusioni.....	61
10	Bibliografia essenziale.....	62



# 1. Introduzione

## IL FORMAGGIO SILTER

La produzione del formaggio "SILTER" vanta remote origini come antica è la tradizione zootecnica della sua zona di produzione. Al riguardo, di grande interesse e rilievo è il vasto patrimonio documentario costituito dagli archivi comunali, in particolare del comune di Zone (BS), da cui si deduce che la produzione del SILTER è tipica della Valle Camonica e delle zone prealpine a est del lago di Iseo come dimostra uno scritto rinvenuto alla fine del 1800 tra le carte della vecchia casa comunale di Zone: *"A seguito d'una richiesta di appello al Collegio Ecc.mo dei X Savii del Corpo del Senato di Venezia, presentata nel 1533 da Cristoforo Bordiga "Consul comunis et hominum de Zono" dall'interrogatorio dei testimoni che ebbe luogo dal Luglio all'Agosto 1533, risulta che Simone, un altro degli Almici menava del formazo a Chiarichel toleva dal monte de Gulem, suso in cima la tera de Zono"*. In Valle Camonica e nel Sebino-Bresciano il termine "SILTER" indica le malghe o casere situate sui pascoli dove avviene la lavorazione e la prima stagionatura dei formaggi fatti in alpeggio.

La trasformazione del latte in formaggio rappresenta quindi da secoli una fonte essenziale di sostentamento per le zone montane bresciane. In Valle Camonica e nel Sebino bresciano sono prodotti annualmente circa 12 milioni di litri di latte destinati alla trasformazione presso caseifici aziendali o in alpeggio. Tra le produzioni casearie camune, quella del SILTER assorbe annualmente circa il 30-35% della produzione latte di queste zone. Le realtà produttive sono molto diversificate infatti possono essere malghe alpine o caseifici di fondovalle. Questi ultimi possono essere a loro volta cooperative di medio-grandi dimensioni o piccole aziende che trasformano direttamente il latte delle bovine di loro proprietà.

La zona di produzione del SILTER, qui rappresentata (linea rossa), comprende un territorio montano collocato nella fascia prealpina ed alpina della provincia di Brescia. Questo territorio si estende dal lago d'Iseo al passo del Tonale e di Gavia ed è limitato al territorio dei Comuni appartenenti alla Provincia di Brescia ricadenti nelle Comunità Montane di Valle Camonica e parzialmente del Sebino Bresciano.

La presenza del lago di Iseo a Sud e dell'Adamello a Nord, condiziona e caratterizza l'ambiente rendendolo unico nel suo genere e non assimilabile ad altro territorio montano. Il clima, relativamente mite grazie alla presenza del lago di Iseo, presenta una marcata escursione termica tra giorno e notte; ciò contraddistingue le produzioni foraggere sia a livello qualitativo che quantitativo.





La realtà zootecnica nell'areale di produzione del SILTER è caratterizzata dalla presenza di numerosi allevamenti di medie dimensioni che trasformano nei propri caseifici aziendali il latte prodotto da vacche prevalentemente di razza Bruna. Notevole importanza assume, nel contesto montano, la produzione di formaggio durante il periodo estivo. Infatti, gli allevatori conducono le mandrie in alpeggio ad altitudini comprese tra 1.500 e 2.500 m s.l.m per 3-4 mesi all'anno.



La tecnologia di trasformazione trova origine nella tradizione rurale del comprensorio e non prevede alcun trattamento termico del latte. Questo vincolo deriva dalla volontà di continuare ad applicare la tradizionale metodica di lavorazione che consente di preservare la biodiversità microbica derivante dall'ambiente di produzione, dando così un forte valore al "sapere" ed alla capacità del casaro di sapersi adattare alle differenti condizioni di lavorazione.

E' consuetudine l'impiego di caldaie in rame con riscaldamento del latte a fuoco diretto mediante l'utilizzo di legna, anche se tra i diversi caseifici aziendali sono riscontrabili alcune variazioni nella tecnologia di lavorazione.



7

L'affioramento naturale della panna, attuata in piccole bacinelle o vasche in ambiente fresco e ventilato, consente una selezione naturale dei microrganismi naturalmente presenti nel latte crudo.

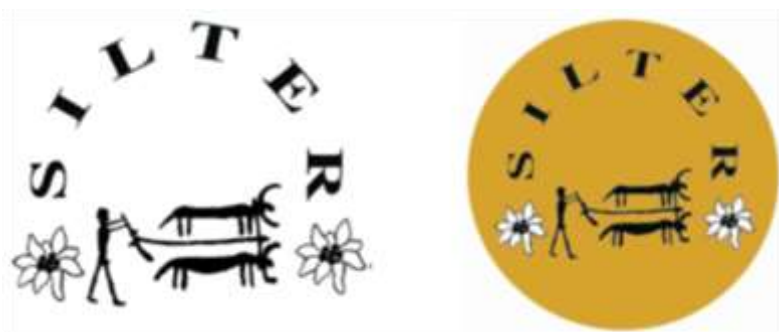


Questi microrganismi, unitamente a quelli apportati dall'eventuale utilizzo di lattoinnesto, sieroinnesto o fermenti autoctoni, è strettamente legata e condizionata dall'ambiente di produzione.

La stagionatura dei formaggi avviene prevalentemente in cantine denominate "silter", le cui condizioni termo igrometriche influiscono notevolmente sui processi di maturazione dei formaggi.

La volontà di tutelare e valorizzare il formaggio SILTER emerge nel 1979, quando la Comunità Montana del Sebino Bresciano deposita alla Camera di Commercio di Brescia il marchio collettivo di impresa del formaggio SILTER (brevetto riconosciuto poi dal Ministero dell'Industria e del Commercio e dell'Artigianato il 3/10/1985). Il 23 novembre 2006 nasce il "CONSORZIO VOLONTARIO PER LA TUTELA DEL FORMAGGIO SILTER CAMUNO SEBINO". Il Consorzio riunisce i produttori e stagionatori dell'area camuno-sebina e ha sede a Breno, in Valle Camonica. I soci del Consorzio sono attualmente 36, tra i quali 28 produttori, 5 stagionatori e 3 sostenitori che rappresentano i più importanti enti sovracomunali di quest'area ossia le Comunità Montane di Valle Camonica e del Sebino Bresciano ed il Consorzio Comuni BIM. Per valorizzare ulteriormente la qualità di questo formaggio e concretizzare gli sforzi compiuti per la sua promozione, il Consorzio e le due Comunità Montane hanno recentemente inoltrato una nuova richiesta di registrazione della D.O.P. del Formaggio SILTER al Ministero delle Politiche Agricole, Alimentari e Forestali con il parere positivo di Regione Lombardia.

Nel frattempo, il Consorzio ha istituito un marchio di tutela collettivo rappresentato da una scena di aratura con figure antropomorfe (le tipiche incisioni rupestri di Valle Camonica) affiancata da due stelle alpine e dalla scritta SILTER. Il marchio, impresso a fuoco sul piatto del formaggio dopo 100 giorni di stagionatura, si affianca all'utilizzo di una fascia marcante all'interno delle fascere che consente di imprimere sullo scalzo del SILTER i caratteri distintivi del marchio.



## 2. Il Progetto VALTEMAS

La realtà casearia artigianale presenta alcune criticità che spesso richiedono la necessità di ottimizzare taluni passaggi del processo produttivo che, pur nel rispetto delle tecniche tradizionali di preparazione e stagionatura, favoriscano il miglioramento e la normalizzazione della qualità del prodotto finito. Da questo punto di vista, la via più immediata per risolvere alcune problematiche di tipo microbiologico è il ricorso a starter commerciali non autoctoni il cui utilizzo in caseificazione pregiudica tuttavia le caratteristiche di tipicità del formaggio. Anche in considerazione di questi aspetti, nel Disciplinare di produzione del SILTER sono autorizzate specifiche operazioni tecnologiche mirate a soddisfare alcune esigenze dei produttori, pur nel rispetto della tipicità e della lavorazione tradizionale. Tra esse viene autorizzato l'impiego di starter autoctoni selezionati in caseificazione. Tra le problematiche ascrivibili alla tecnologia di produzione che possono essere risolte con l'introduzione di starter autoctoni selezionati rientrano l'eccesso di fermentazione propionica e il gonfiore precoce dovuto alla attività di batteri coliformi ed eterofermentanti. Questi aspetti sono di fondamentale importanza nella preparazione di formaggi a latte crudo, dove l'impiego dell'innesto contribuisce a "governare" i processi fermentativi in caseificazione, riducendo l'insorgenza di difetti nel formaggio. Esso assicura corrette condizioni di acidificazione e spurgo della cagliata consentendo, allo stesso tempo, lo sviluppo equilibrato delle diverse specie microbiche filocasearie presenti nella materia prima. L'impiego di fermenti lattici selezionati rispetto all'uso di colture naturali, soprattutto in piccole strutture aziendali, garantisce una maggiore regolarità della caseificazione. Nel caso di formaggi tipici, è di notevole interesse l'uso di starter isolati e selezionati dalla microflora autoctona caratteristica di ciascun formaggio. Occorre, tuttavia, conoscere i diversi microrganismi che intervengono nel processo di caseificazione, identificandoli e valutandone le numerose attività enzimatiche. In questo modo è possibile conservare i caratteri tipici di pregio di queste produzioni e migliorarne la qualità, evitando di ridurle a prodotti standardizzati ma anonimi, dal gusto appiattito e privo delle caratteristiche peculiari.

In una precedente sperimentazione condotta dall'Istituto di Scienze delle Produzioni Alimentari del CNR di Milano erano stati identificati diversi batteri autoctoni derivanti da lavorazioni a SILTER effettuate presso alcune aziende presenti in alpeggio o fondovalle. Una preliminare caratterizzazione tecnologica aveva portato all'individuazione di circa 50 biotipi potenzialmente utilizzabili per la preparazione di colture starter per la caseificazione. Tuttavia, l'attività tecnologica di questi biotipi (singoli o in miscela) era stata valutata solo a livello di laboratorio o di piccole produzioni pilota e limitatamente ad alcune attività fermentative e metaboliche. Prima di questo Progetto non erano state effettuate sperimentazioni mirate a valutare il mantenimento delle proprietà tecnologiche degli innesti dopo preparazione industriale e l'effetto dell'impiego di tali colture in diverse condizioni di lavorazione sulle caratteristiche finali del formaggio. Nello stesso tempo non era stata effettuata una valutazione dell'economicità della messa in produzione su scala industriale di tali fermenti al fine di garantire un costo sostenibile anche per il più piccolo dei produttori.

Su queste basi, l'obiettivo generale del Progetto è stato quello di valutare il possibile impiego di miscele di microrganismi autoctoni quali starter liofilizzati per la produzione di SILTER atti a garantire, durante la lavorazione del latte e la maturazione del formaggio, processi fermentativi capaci di ridurre il rischio di difetti e di mantenere inalterate le caratteristiche sensoriali tipiche del formaggio. Nel Progetto sono state quindi affrontate le problematiche legate a:

- ➔ la definizione di un processo di preparazione industriale degli starter autoctoni in grado di mantenere inalterate le proprietà tecnologiche dell'originario innesto scelto a livello di laboratorio;
- ➔ la comprensione del ruolo che tali proprietà svolgono nella definizione delle caratteristiche finali del SILTER attraverso il riconoscimento dei processi biochimici operati in caseificazione e durante la maturazione del formaggio;

Per il raggiungimento di tali obiettivi, il lavoro è stato sperimentalmente svolto secondo le Fasi di seguito descritte.

### 3. FASE I - Preparazione industriale degli starter autoctoni

Durante questa Fase del Progetto, la ricerca è stata mirata alla definizione delle condizioni per la preparazione industriale degli starter autoctoni. A partire dalla collezione di 50 ceppi di batteri lattici autoctoni, ritenuti idonei per la preparazione di colture starter, sono state create una decina di miscele. Per la loro preparazione si è cercato di riprodurre la composizione e la distribuzione percentuale di ciascun ceppo batterico ritrovata all'interno dell'innesto naturale utilizzato in vari contesti aziendali durante la caseificazione a SILTER. Queste miscele sono quindi state testate a livello di laboratorio per alcune proprietà tecnologiche (potere acidificante, velocità di acidificazione, esigenze nutrizionali, tempo di coagulo, temperatura ottimale di crescita, produzione di gas, etc.) e, su queste basi, ritenute idonee quali starter per l'esecuzione di prove di caseificazione. In considerazione della possibile non idoneità dei ceppi selezionati di adattarsi al processo industriale, si è scelto di sottoporre alla fase di scale up industriale 15 ceppi di batteri lattici presenti nella composizione di quattro (n. 1, 5, 8 e 11) delle miscele impiegate in precedenti prove pilota in caseificio e risultate particolarmente interessanti in termini caseari.

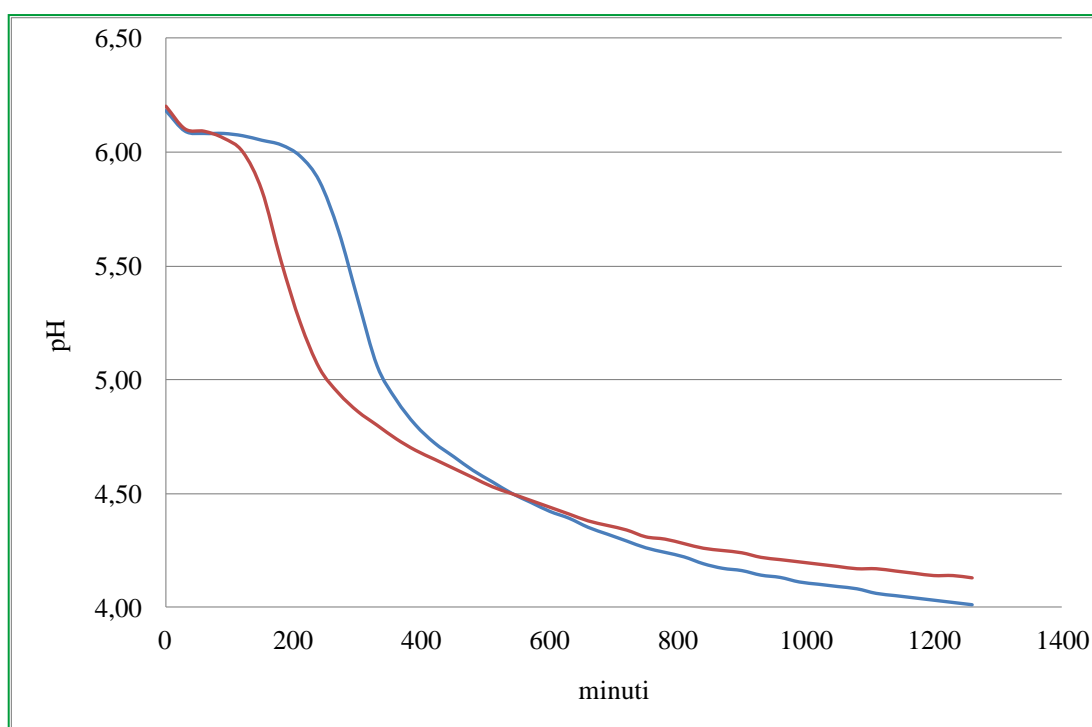


Le principali problematiche affrontate prima della preparazione industriale hanno riguardato in primo luogo la fagoresistenza dei biotipi autoctoni selezionati e, secondariamente, la loro adattabilità alle diverse fasi (fermentazione, concentrazione e stabilizzazione) del processo industriale, nonché alla resa in volume. Nel complesso la validità del processo di preparazione industriale degli starter autoctoni liofilizzati è stata verificata attraverso il controllo, prima e dopo il processo stesso, del numero di cellule vitali presenti e delle loro proprietà tecnologiche a livello di laboratorio. In particolare, le miscele n. 1, 5, 8 e 11 sono state testate per: tempi di crescita, di coagulo a 42 °C in LPEL, curva di acidificazione a 25 °C e 37 °C in latte pastorizzato, resa industriale in impianto pilota e analisi del profilo fagico. Di primaria importanza, inoltre, è stata la verifica del numero di cellule vitali da inoculare in caldaia per ottenere la curva di acidità individuata quale ottimale. Tutto il citato lavoro ha considerato l'economicità del processo nel garantire la quantità di starter necessaria per i produttori di SILTER ad un costo, per singola dose, sostenibile anche dalle più piccole realtà produttive.

I risultati hanno evidenziato che alcuni dei batteri lattici autoctoni erano sensibili ad uno o più fagi tra quelli testati, mentre altri presentavano un'insufficiente resa al processo di produzione industriale. Si è quindi scelto di escluderli dalla composizione delle miscele, due delle quali (5 e 11) sono state impiegate nelle successive prove in caseificio e che, in considerazione delle caratteristiche tecnologiche dei singoli ceppi, sono state formulate come segue:

	miscela 5	miscela 11
<i>S. thermophilus</i> ST56		
<i>S. thermophilus</i> ST182		
<i>S. thermophilus</i> ST383		
<i>S. thermophilus</i> ST421		
<i>Ln. pseudomesenteroides</i> ST23		
<i>Ln. mesenteroides</i> ST32		
<i>Lc. lactis</i> ST87		
<i>Lc. lactis</i> ST81		

Il numero di batteri presenti in ogni singola dose, predisposta per la caseificazione di 500 L di latte, è stato stabilito in funzione dell'ottenimento di una curva di acidificazione sovrapponibile a quella precedentemente individuata in prove di laboratorio come ottimale (figura 1).



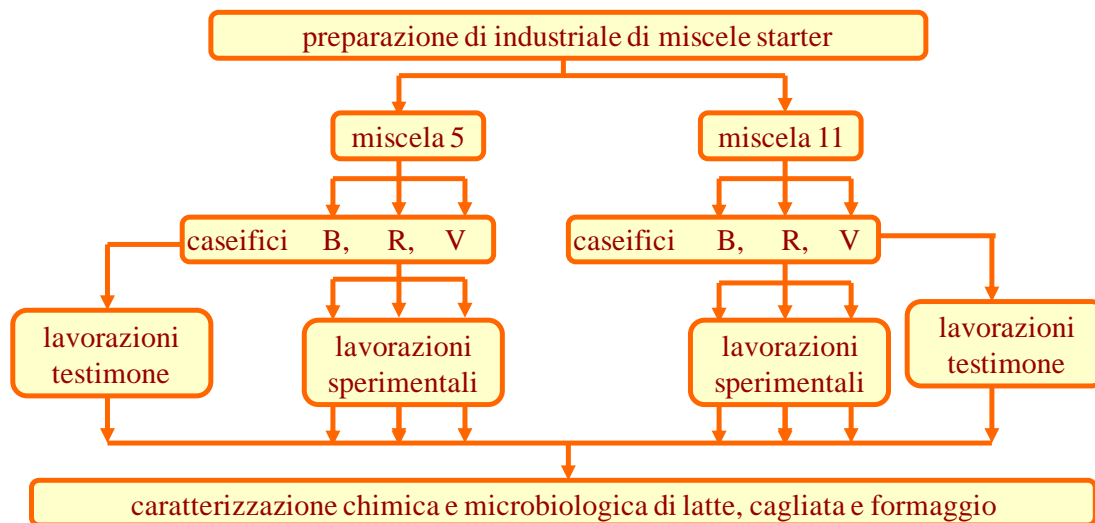
**Figura 1.** Curve di acidificazione in latte delle miscele 5 (—) e 11 (—) di batteri autoctoni.



## 4. FASE II - Caseificazioni sperimentali con starter autoctoni liofilizzati

### 4.1. CASEIFICAZIONI SPERIMENTALI

A seguito delle prove di *scale up* industriale e di preparazione delle due miscele, l'attività del Progetto è stata indirizzata a valutare l'effetto dello starter autoctono liofilizzato sulle caratteristiche del formaggio SILTER in diversi contesti aziendali. A tal fine, sono state effettuate caseificazioni sperimentali con gli starter autoctoni liofilizzati 5 e 11; di ogni caseificazione sono stati analizzati il latte di massa, la cagliata dopo stasi in fascera, l'innesto e il formaggio dopo 30, 60 e 200 giorni di maturazione, secondo il seguente piano sperimentale:



Le due miscele sono state utilizzate per prove sperimentali di caseificazione presso tre caseifici (R, B e V) associati al Consorzio di Tutela del Formaggio SILTER la cui localizzazione è indicata in figura (cerchi rossi).





Le principali caratteristiche delle aziende sono descritte nella tabella 1. In particolare, le aziende selezionate rappresentano una struttura cooperativa di medie dimensioni (caseificio V) e due piccole realtà produttive anche con produzioni estive di alpeggio (caseifici B e R).

**Tabella 1.** Principali caratteristiche dei caseifici B, V e R.

	<b>B</b>	<b>R</b>	<b>V</b>
<i>Struttura</i>	piccolo caseificio	piccolo caseificio	cooperativa
<i>Altitudine caseificio (m slm)</i>	700	350	200
<i>Materiale caldaia</i>	acciaio	rame	acciaio
<i>Riscaldamento caldaia</i>	vapore	bruciatore a gas	vapore
<i>Innesto</i>	nessuno	nessuno	innesto commercio
<i>Rottura cagliata</i>	spino	spannarola e spino	spino
<i>Tempo di cottura (min)</i>	20	30-40	15-35
<i>Sosta sotto siero (min)</i>	20-40	20-40	quasi nulla
<i>Locale stagionatura</i>	cantina	cantina	cella
<i>Temperatura di stagionatura (°C)</i>	11-22	11-22	9

Le caseificazioni sono state effettuate secondo le metodologie in atto presso i produttori. Per ogni caseificio, alle lavorazioni sperimentali sono state affiancate lavorazioni testimone condotte a partire dallo stesso latte crudo. Nel caso dei due piccoli caseifici le lavorazioni testimone sono state condotte senza utilizzo di innesto mentre la struttura cooperativa ha utilizzato un innesto commerciale liofilizzato di batteri, ma non caratterizzato per composizione microbiologica.

Il latte di massa delle tre aziende posto in affioramento presenta carica batterica e numero di cellule somatiche nei limiti allora previsti dalla normativa, senza le deroghe concesse per la produzione di formaggi con stagionatura superiore ai 60 giorni. In particolare, le cellule somatiche del latte di massa sono risultate inferiori a 200.000 per ml di latte nel caseificio R, e inferiori a 300.000 e 400.000 nel latte dei caseifici B e V rispettivamente. La carica batterica risulta inferiore a 50.000 ufc/mL per il latte dei caseifici R e V; nel caseificio B, pur con valori più elevati, si mantiene sempre sotto i 100.000 ufc/mL. Nelle aziende R e B la caseificazione avviene una volta al giorno utilizzando il latte di due munte. Il latte crudo viene scremato per affioramento naturale della panna durante la sosta in bacinelle di acciaio situate in un appositi locali (vedi foto seguenti relative, da sinistra a destra, ai caseifici B, R e V).



Le condizioni tempo/temperatura con cui viene eseguito l'affioramento sono abbastanza simili tra i tre produttori: 20-24 ore e 8-12 ore per la prima e seconda munta rispettivamente, a 8-12 °C. Tuttavia, il “controllo” del contenuto residuo in grasso del latte trasferito in caldaia si basa su valutazioni soggettive del casaro che comportano scostamenti anche importanti del contenuto in grasso (1,7-3,0 g/100 mL) e, conseguentemente, differenze nella composizione chimica del formaggio (vedi più avanti). Il latte scremato per affioramento viene trasferito manualmente nelle caldaie di lavorazione della capacità di circa 300-500 kg. Come si osserva dalle foto seguenti, l'attrezzatura comprende la classica caldaia in rame (caseificio R) ovvero una caldaia in acciaio (caseificio V) eventualmente facente parte di un impianto tipo “minicaseificio” (caseificio B). Nel caso dell'azienda R il riscaldamento di latte e cagliata avviene utilizzando un bruciatore a gas, nelle

aziende B e V con vapore. Questi fattori (tipo di caldaia e fonte di calore) si ripercuotono nelle cinetiche di riscaldamento che risultano più rapide con la caldaia a vapore.



Il latte in caldaia (acidità di titolazione 3,3-4,0 °SH/50 mL) è addizionato di caglio in polvere di vitello (1:125000) alla temperatura di 38 °C, 35,7-39,5 °C e 39,5 °C rispettivamente per i caseifici B, R e V. Il controllo della temperatura di coagulazione (e cottura) viene effettuato con termometri (caseifici R e V) o termocoppia (caseificio B). Una volta ottenuta la coagulazione, si procede alla rottura del coagulo effettuando la prima rottura dopo circa 25-40 minuti seguita immediatamente dalla seconda rottura per i caseifici B e V, ovvero a distanza di 10-15 minuti per il caseificio R che effettua una prima rottura superficiale con la spannarola (foto in basso a sinistra). Le rotture determinano l'ottenimento di grani di pasta delle dimensioni da un grano di riso ad un chicco di mais nei caseifici B e R, mentre nel caseificio V la rottura è a nocciola-noce. La corretta rottura della cagliata avviene utilizzando lo spino (foto seguenti), preceduta nel solo caso del caseificio R da una rottura e rivoltamento superficiale della cagliata con spannarola.

14



La temperatura di cottura della cagliata risulta compresa tra 48 °C e 50 °C (46-52 °C per il Disciplinare), in funzione del livello di spurgo della cagliata che si intende raggiungere. Il tempo di cottura adottato è: 20 minuti per il caseificio B con un incremento di temperatura pari a 0,41 °C/min, 29-40 minuti per il caseificio R con un  $\Delta T/\text{min}$  di 0,29-0,42 °C e, infine di 15-35 con  $\Delta T/\text{min}$  di 0,29 °C per il caseificio V. Nel caso dei caseifici B e R, dopo cottura e una volta depositata sul fondo della caldaia, la cagliata sosta sotto siero per circa 20-40 minuti. La cagliata viene estratta con una tela, messa in fascera di legno e lasciata a spurgare per 12-24 ore sul tavolo di sgocciolamento con 3-4 rivoltamenti nelle prime ore (vedi foto seguenti). Nel caso del caseificio V, la cagliata viene scaricata direttamente con il siero. Le forme sono telate e messe in fascera dopo 30 minuti. Nel complesso, i tempi di lavorazione compresi tra l'aggiunta del latte in caldaia e la messa in fascera della cagliata risultano di 120-150, 200-225 e 165-205 minuti, rispettivamente per i caseifici B, R e V.

Il processo di allontanamento del siero dalla cagliata viene favorito dalla pressatura della forma ottenuta manualmente e per successiva sovrapposizione di materiale vario con peso pari a quello della forma di formaggio (prima e seconda fotografia). Nel caseificio V, la pressatura delle forme avviene per sovrapposizione delle stesse. La salatura viene effettuata in salamoia (16-20 Bé) da 4 a 10 giorni in funzione del peso del formaggio (terza fotografia relativa al caseificio R).



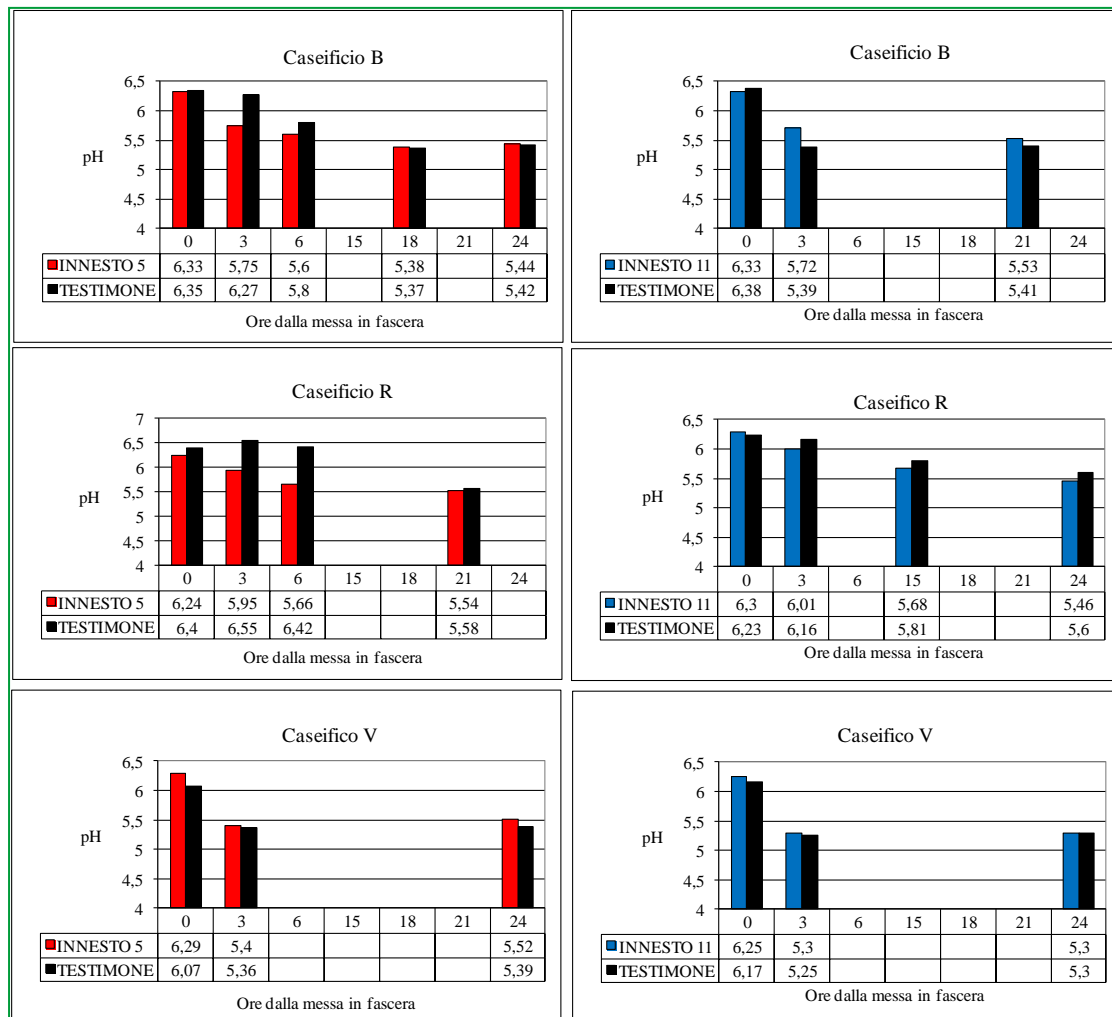
La stagionatura dei formaggi è effettuata nei locali dei rispettivi caseifici che, nel caso dell'azienda V, sono costituiti da celle refrigerate ovvero da locali dedicati, ma senza controllo dei parametri temperatura/umidità, nel caso delle aziende B e R (vedi fotografie seguenti). Mediamente i parametri sono i seguenti: 7 °C e 70% UR, 10 °C e 90% UR, 5 °C e 85% UR, rispettivamente per le aziende B, R e V.



Per ogni caseificazione sono state prodotte almeno una forma testimone ed una sperimentale dalle quali si è proceduto al campionamento dopo 30, 60 e 200 giorni di maturazione prelevando una fetta del peso di circa 700-800 g.

## 4.2. VALUTAZIONE DELLE PROPRIETÀ TECNOLOGICHE DEGLI STARTER LIOFILIZZATI

L'attività dell'innesto è stata valutata confrontando le curve di acidificazione ottenute per le prove sperimentali e quelle testimone. Come è possibile osservare dalla figura 2, l'innesto 5 presenta un'attività acidificante inizialmente più spinta rispetto alle lavorazioni testimone effettuate presso i caseifici R e B. I valori di pH della cagliata dopo 6 ore di stasi in fascera risultano rispettivamente pari a 5,66 e 5,60 contro 6,42 e 5,80 delle lavorazioni testimone. Tuttavia, dopo 21-24 ore di stasi le cagliate, comunque ottenute, presentano valori di pH sovrapponibili e compresi tra 5,42 e 5,58. Diverso appare il caso dell'innesto 11 che, soprattutto nelle fasi iniziali di stasi, presenta un'attività acidificante inferiore a quella dell'innesto 5; in particolare, nel caso del caseificio R il livello di acidificazione alla messa in fascera è inferiore anche a quello verificato nella lavorazione testimone. Non si osservano invece differenze significative tra la curva di acidificazione della lavorazione testimone e quelle delle lavorazioni sperimentali effettuate presso il caseificio V che, come descritto, utilizza un innesto liofilizzato del commercio. In tutti i casi, l'acidità del siero spurgato risulta compresa tra 2,10 e 2,50 °SH/50 mL.



**Figura 2.** Evoluzione del valore di pH della cagliata durante le lavorazioni sperimentali e testimone effettuate presso i caseifici B, R e V.



### 4.3. DETERMINAZIONE DELLE CARATTERISTICHE CHIMICHE E MICROBIOLOGICHE DI LATTE, CAGLIATE E FORMAGGI DELLE LAVORAZIONI SPERIMENTALI

Alcune caratteristiche chimiche e microbiologiche del latte di massa utilizzato nelle caseificazioni sono riassunte nella tabella 2. Come si osserva, la carica batterica totale del latte in caldaia (dopo affioramento e prima dell'aggiunta dell'innesto) risulta, molto più dei parametri chimici, estremamente variabile tra le aziende. Durante l'affioramento la microflora nativa del latte si moltiplica e, nello stesso tempo, viene in parte agglutinata nella crema affiorata determinando una parziale depurazione fisica del latte scremato. Questi fenomeni avvengono in relazione alle caratteristiche microbiologiche del latte di partenza, ma sono anche legate alla "capacità" di affioramento del latte stesso e alle condizioni tempo/temperatura adottate durante la sosta in bacinella. Il livello finale di carica microbica del latte posto in caldaia è infine legato alla manualità adottata per la spillatura del latte dalle bacinelle di affioramento, manualità che determina una minore o maggiore rimozione di crema e quindi di carica batterica del latte scremato destinato in caldaia. L'effetto di "bonifica" dell'affioramento sulle caratteristiche igienico-sanitarie del latte si evidenzia invece nel basso contenuto in cellule che caratterizza il latte in caldaia di tutti i caseifici.

**Tabella 2.** Principali caratteristiche igienico-sanitarie e chimiche e del latte in caldaia.

		carica batterica totale*	cellule somatiche	inibenti	grasso	lattosio	proteine	caseine
		(log <sub>10</sub> ufc/mL)	(n/mL)			(g/100 g)		
<b>B</b>	<i>testimone</i>	6,36	230.000	assenti	3,77	4,89	3,65	2,86
	<i>miscela 5</i>	6,22	183.000	assenti	3,24	4,91	3,67	2,87
	<i>testimone</i>	6,57	274.000	assenti	4,16	4,82	3,53	2,77
	<i>miscela 11</i>	6,52	158.000	assenti	2,77	4,90	3,58	2,79
<b>R</b>	<i>testimone</i>	4,46	25.000	assenti	2,28	5,08	3,76	2,96
	<i>miscela 5</i>	5,6	15.000	assenti	1,99	5,13	3,74	2,95
	<i>testimone</i>	5,26	18.000	assenti	2,18	5,07	3,86	3,05
	<i>miscela 11</i>	5,23	30.000	assenti	2,31	5,05	3,86	3,04
<b>V</b>	<i>testimone</i>	4,41	306.000	assenti	4,23	4,90	3,75	2,94
	<i>miscela 5</i>	5,29	331.000	assenti	4,04	4,87	3,68	2,88
	<i>testimone</i>	5,85	116.000	assenti	2,61	4,93	3,87	3,03
	<i>miscela 11</i>	6,01	161.000	assenti	2,51	4,97	3,77	2,95

\* Determinazione effettuata prima dell'aggiunta dell'innesto autoctono liofilizzato (5 o 11)

Il contenuto di proteine del latte in caldaia oscilla tra 3,53 e 3,87 g/100 mL, quello di caseina risulta invece compreso tra 2,77 e 3,05 g/100 mL. La caseina rappresenta quindi il 77,9-79,0% dell'azoto proteico del latte in caldaia. Il contenuto in grasso appare più variabile (1,99-4,23 g/100 mL) e collegabile alla diverse condizioni di affioramento e alla manualità adottata per la spillatura del latte dalle bacinelle. Si osservi ad esempio il diverso contenuto tra il latte in caldaia della prova testimone e della prove sperimentale con l'innesto presso il caseificio B (4,16 vs 2,77) o quello tra le caseificazioni con l'innesto 5 e le prove con l'innesto 11 effettuate presso il caseificio V (4,04-4,23 vs 2,51-2,61). Di conseguenza, il rapporto grasso/caseina si presenta molto diversificato tra i 3 caseifici: 1,0-1,5 per l'azienda B, 0,7-0,8 per l'azienda R e 0,9-1,4 per l'azienda V. Il contenuto in caseina e il rapporto grasso/caseina del latte in caldaia destinato alla caseificazione determinano la resa, ma anche talune caratteristiche qualitative del formaggio (consistenza, aroma, colore etc.). Pur non essendo previsti nel Disciplinare limiti entro i quali deve situarsi il rapporto grasso/caseina del latte in caldaia, è del tutto evidente che la conoscenza di tale rapporto costituisce una informazioni fondamentale per la definizione, il controllo, l'ottimizzazione dei processi produttivi dei singoli caseifici produttori di SILTER.

La determinazione della composizione acidica del grasso è stata effettuata sul latte in caldaia utilizzato per le due caseificazioni (testimone/miscela 5 e testimone/miscela 11). L'analisi ha permesso di identificare complessivamente 42 acidi grassi, i cui livelli, espressi in % sugli acidi grassi totali, sono riportati nella tabella 3.

**Tabella 3.** Composizione acidica (% acidi grassi totali) del grasso del latte utilizzato per le caseificazioni sperimentali.

	Caseificio B		Caseificio R		Caseificio V	
	testimone (miscela 5)	testimone (miscela 11)	testimone (miscela 5)	testimone (miscela 11)	testimone (miscela 5)	testimone (miscela 11)
Acido butanoico	4,76	4,81	4,58	3,84	4,54	3,98
Acido pentanoico	0,04	0,05	0,04	0,04	0,05	0,04
Acido esanoico	2,74	2,67	2,65	2,61	2,56	2,52
Acido eptanoico	0,02	0,02	0,02	0,02	0,03	0,03
Acido ottanoico	1,50	1,48	1,43	1,39	1,38	1,43
Acido nonanoico	0,02	0,03	0,02	0,02	0,02	0,03
Acido decanoico	3,19	3,18	3,13	2,85	3,06	3,22
Acido 9-decenoico	0,33	0,32	0,35	0,34	0,30	0,30
Acido undecanoico	0,07	0,08	0,06	0,06	0,06	0,07
Acido dodecanoico	3,67	3,62	3,57	3,39	3,50	3,70
Acido 11-metil-dodecanoico	0,05	0,05	0,08	0,09	0,05	0,07
Acido <i>cis</i> -9-dodecenoico	0,08	0,08	0,11	0,10	0,09	0,09
Acido tridecanoico	0,09	0,08	0,12	0,11	0,10	0,12
Acido 12-metil-tridecanoico	0,14	0,15	0,22	0,23	0,15	0,15
Acido tetradecanoico	11,38	11,54	12,06	11,91	11,13	11,18
Acido 13-metil-tetradecanoico	0,27	0,26	0,37	0,36	0,27	0,24
Acido 12-metil-tetradecanoico	0,47	0,46	0,59	0,60	0,50	0,47
Acido <i>cis</i> -9-tetradecenoico	0,98	1,00	1,32	1,21	1,09	0,99
Acido pentadecanoico	0,94	1,01	1,39	1,33	1,18	1,06
Acido 14-metil-pentadecanoico	0,30	0,30	0,37	0,34	0,29	0,31
Acido esadecanoico	29,89	30,86	30,59	30,87	29,81	28,94
Acido 15-metil-esadecanoico	0,33	0,32	0,33	0,42	0,35	0,35
Acido 14-metil-esadecanoico	0,15	0,16	0,20	0,21	0,27	0,23
Acido <i>cis</i> -6-esadecenoico	1,57	1,58	2,00	1,80	1,83	1,64
Acido eptadecanoico	0,51	0,57	0,60	0,66	0,55	0,50
Acido 16-metil-eptadecanoico	0,19	0,18	0,23	0,19	0,15	0,16
Acido ottadecanoico	9,56	9,33	7,49	8,99	9,05	9,77
Acido <i>trans</i> -9-ottadecenoico	0,53	0,36	0,47	0,50	0,57	0,54
Acido <i>trans</i> -11-ottadecenoico	1,44	1,43	1,39	1,40	1,67	1,53
Acido <i>trans</i> -12-ottadecenoico	0,21	0,16	0,15	0,17	0,24	0,27
Acido <i>cis</i> -9-ottadecenoico	19,75	19,38	19,66	19,68	20,12	20,30
Acido <i>cis</i> -10-ottadecenoico + Acido <i>trans</i> -13-ottadecenoico	0,43	0,31	0,43	0,16	0,35	0,41
Acido <i>cis</i> -11-ottadecenoico	0,60	0,51	0,49	0,54	0,46	0,58
Acido <i>cis</i> -12-ottadecenoico	0,20	0,11	0,09	0,17	0,23	0,38
Acido <i>cis</i> -13-ottadecenoico	0,03	0,02	0,01	0,01	0,01	0,02
Acido <i>trans</i> -16-ottadecenoico	0,11	0,12	0,13	0,16	0,18	0,29
Acido <i>cis,trans</i> -?,?-ottadecadienoico	0,40	0,41	0,43	0,46	0,47	0,55
Acido <i>cis,cis</i> -9,12-ottadecadienoico	2,10	1,94	1,38	1,36	2,14	2,41
Acido eicosanoico	0,10	0,11	0,13	0,11	0,07	0,08
Acido <i>cis,cis,cis</i> -6,9,12-	0,02	0,05	0,02	0,01	0,02	0,02
Acido <i>cis,cis,cis</i> -9,12,15-	0,42	0,46	0,74	0,74	0,54	0,51
Acido <i>cis,trans</i> -9,11-ottadecadienoico	0,40	0,44	0,57	0,56	0,58	0,53

Dai risultati non si osservano rilevanti differenze nella composizione acidica del grasso tra le due lavorazioni; tuttavia, si rilevano maggiori differenze tra i caseifici imputabili alla diversa alimentazione del bestiame oltre che alle caratteristiche degli animali stessi. L'acido *cis,trans*-9,11-ottadecadienoico, noto anche come acido linoleico coniugato (CLA), è un acido grasso correlato ad un'alimentazione ricca di foraggi verdi (pascolo) che contiene i precursori di queste molecole. Dalle analisi effettuate sui campioni di SILTER è possibile osservare che il latte dei caseifici R e V ha un



quantitativo maggiore di CLA (0,53-0,58%) rispetto al caseificio B (0,40-0,44%). La concentrazione di acido 12-metil-tridecanoico, utilizzato come marker per i formaggi ottenuti da lattini di animali alimentati prevalentemente con foraggi freschi, conferma in parte quanto precedentemente evidenziato; infatti il latte del caseificio R possiede i valori più alti (0,22-0,23%) mentre quelli dei caseifici B e V hanno valori simili (0,14-0,15%). Un altro acido grasso importante, in quanto precursore del CLA, è l'acido vaccenico (C18:1 t11). I valori più alti caratterizzano il latte del caseificio V con valori di 1,67 e 1,53%. Tra gli acidi grassi della serie  $\omega$ -3, i valori di acido alfa-linolenico (ALA) osservati nei campioni sono correlabili a lattini prodotti in aziende con alimentazione prevalentemente a base di silomais. Il contenuto in ALA del grasso del latte proveniente dall'azienda B è risultato inferiore a quello degli altri due caseifici. Tra gli acidi grassi a catena ramificata, l'acido isoC14 è correlato ad un'alimentazione povera di mais, ed è risultato un ottimo marker della alimentazione verde nei casi di bovine non al pascolo. Tutti gli acidi grassi ramificati (isoC14, isoC15, isoC16, isoC17, isoC18, anteisoC15 e anteisoC17), sono presenti in percentuale più elevata nei due campioni di latte dell'azienda R. Per questo motivo, considerando la composizione acidica del grasso latteo, è possibile ipotizzare che l'alimentazione delle bovine del caseificio R comprenda una maggior percentuale di alimenti freschi/affienati ed una minor percentuale di derivati del mais.

Sul latte in caldaia sono state effettuate anche analisi microbiologiche mirate ad identificare la presenza di Enterobacteriacee e di stafilococchi coagulasi e lecitinasi positivi (vedi tabella 4). Gli Stafilococchi sono risultati inferiori al limite di rilevabilità nella quasi totalità dei campioni analizzati. Si è invece registrato un contenuto di Enterobacteriaceae variabile e compreso tra 40 e  $3,5 \cdot 10^4$  ufc/mL. Per questo parametro sono stati ottenuti valori variabili anche all'interno della stessa azienda, dato che si evidenzia maggiormente nel caso del caseificio V. Questa variabilità della qualità igienico-sanitaria del latte in caldaia anche tra le lavorazioni della stessa giornata evidenzia una disomogeneità del latte di partenza.

**Tabella 4.** Livelli di Enterobacteriacee e di stafilococchi coagulasi e lecitinasi positivi rilevati nel latte in caldaia.

		Enterobacteriaceae (log10 ufc/mL)	Stafilococchi lecitinasi e coagulasi positivi (ufc/mL)
<b>B</b>	<i>testimone</i>	3,85	<10
	<i>miscela 5</i>	3,71	<40
	<i>testimone</i>	4,3	<10
	<i>miscela 11</i>	4,54	<10
<b>R</b>	<i>testimone</i>	2,08	<40
	<i>miscela 5</i>	1,6	<10
	<i>testimone</i>	3,66	<10
	<i>miscela 11</i>	3,23	<10
<b>V</b>	<i>testimone</i>	2,49	<10
	<i>miscela 5</i>	4,23	<40
	<i>testimone</i>	3,34	<10
	<i>miscela 11</i>	4,2	<10

Le principali caratteristiche chimiche delle cagliate ottenute dalle caseificazioni effettuate presso i tre caseifici sono riportate nella tabella 5. L'umidità dei campioni è compresa tra 48,7% e 55,0%, i livelli di proteine e grasso rientrano rispettivamente negli intervalli 21,0-28,0% e 16,1-25,9%. Il maggior contenuto in proteine in corrispondenza del minor contenuto di grasso caratterizza, a parità di umidità, le cagliate ottenute dalle lavorazioni effettuate presso il caseificio R che, come detto, lavora un latte in caldaia con un rapporto grasso/caseina pari a 0,7-0,8. La quantità di zuccheri residui, compresa tra 0,7% e 1,7%, non appare determinata dal tipo di innesto utilizzato,

quanto piuttosto dalle diverse condizioni di lavorazione in caldaia (temperatura, acidificazione, sineresi...).

**Tabella 5.** Principali caratteristiche chimiche delle cagliate a fine lavorazione. (nd: non determinato)

		umidità	grasso	proteine	zuccheri
		(g/100 g)			
<b>B</b>	<i>testimone</i>	50,97	25,33	21,03	1,68
	<i>miscela 5</i>	54,61	23,24	22,31	1,31
	<i>testimone</i>	48,69	25,94	20,69	1,40
	<i>miscela 11</i>	50,32	20,34	24,39	1,34
<b>R</b>	<i>testimone</i>	nd	nd	nd	nd
	<i>miscela 5</i>	54,54	15,01	27,98	1,41
	<i>testimone</i>	50,67	15,87	28,57	1,17
	<i>miscela 11</i>	51,53	17,35	26,61	0,95
<b>V</b>	<i>testimone</i>	55,04	21,82	27,13	1,21
	<i>miscela 5</i>	51,60	24,63	21,86	1,36
	<i>testimone</i>	52,53	18,49	24,73	0,74
	<i>miscela 11</i>	54,67	16,11	24,06	0,72

Le caratteristiche chimiche dei formaggi a 30, 60 e 200 giorni di maturazione sono riassunte nella tabella 6. Si evidenzia, come ovvio, una riduzione del contenuto di acqua che, mediamente, si riduce di circa 4-7 punti percentuali da 30 a 200 giorni di maturazione. Il valore finale, compreso per tutti i formaggi tra 33,8% e 45,6%, risulta più uniforme quando valutato sui formaggi prodotti dallo stesso caseificio. Da questo punto di vista, la conservazione in cella, quindi in condizioni termo igrometriche più controllate consente di avere formaggi con umidità finale molto simile (34,0-35,6%). Le differenze nel contenuto in grasso e del rapporto grasso/caseina del latte in caldaia si riflettono sul contenuto in grasso del formaggio in maturazione.

A fine stagionatura, i livelli di grasso e proteina risultano rispettivamente compresi negli intervalli 17,6-31,9% e 24,9-33,4%. Come detto, il diverso contenuto in grasso di ogni forma è imputabile alla fase del processo tecnologico durante la quale si separa, per affioramento, il latte dalla panna. In generale, la variabilità compositiva tra i formaggi è quindi collegabile a fattori tecnologici e alla diversa provenienza della materia prima latte.

Gli acidi organici presenti nei formaggi derivano principalmente dal metabolismo microbico o dalla lipolisi della frazione grassa. Particolarmente importante è la produzione di acido lattico e il conseguente abbassamento del pH che caratterizza la cagliata/formaggio nelle prime fasi della maturazione. Questo fenomeno, conseguente all'attività fermentativa dei batteri lattici a carico del lattosio, consente di contenere o inibire la crescita di microrganismi patogeni e alterativi e di favorire lo spurgo della cagliata. I dati ottenuti dall'analisi di singoli zuccheri e acido lattico nella cagliata e nel formaggio permettono di fare ulteriori considerazioni (tabelle 7 e 8). Nelle cagliate si osserva il pressoché completo esaurimento (0-0,33%) degli zuccheri a seguito dell'attività fermentativa dell'innesto e/o della microflora nativa del latte. Il tipo di innesto utilizzato non sembra determinare una degradazione degli zuccheri qualitativamente e quantitativamente differente nelle forme testimoni rispetto a quelle sperimentali.

**Tabella 6.** Valori di umidità, grasso e proteine durante la stagionatura (0, 30, 60, 200 giorni) del formaggio SILTER testimone e sperimentale prodotti presso i caseifici B, R e V. (nd: non determinato).

		Umidità (g/100 g)				Grasso (g/100 g)				Proteine (g/100 g)			
		0	30	60	200	0	30	60	200	0	30	60	200
<b>B</b>	<i>testimone</i>	51,0	42,8	40,8	36,4	25,3	27,2	26,8	29,8	21,0	24,0	25,2	27,6
	<i>miscela 5</i>	54,6	40,6	38,3	33,8	23,2	26,4	27,5	28,7	22,3	26,4	27,3	29,5
	<i>testimone</i>	48,7	41,2	40,6	35,6	25,9	29,3	36,4	31,9	20,7	22,8	23,2	24,9
	<i>miscela 11</i>	50,3	43,2	42,0	37,9	20,3	23,3	24,4	24,6	24,4	27,1	27,3	28,7
<b>R</b>	<i>testimone</i>	nd	46,3	46,1	39,0	nd	18,0	17,9	21,0	nd	29,0	29,3	32,9
	<i>miscela 5</i>	54,5	43,8	43,5	40,8	15,0	17,3	17,8	17,6	28,0	31,5	32,6	33,4
	<i>testimone</i>	50,7	42,1	43,3	45,6	15,9	20,6	20,0	17,7	28,6	28,7	30,3	29,2
	<i>miscela 11</i>	51,5	43,0	43,8	39,2	17,3	20,3	19,7	20,7	26,6	30,1	30,0	32,6
<b>V</b>	<i>testimone</i>	55,0	42,9	40,7	35,3	21,8	22,8	23,2	25,3	27,1	28,7	29,8	33,1
	<i>miscela 5</i>	51,6	41,1	39,7	34,0	24,6	28,5	28,6	30,5	21,9	24,7	25,4	28,2
	<i>testimone</i>	52,5	41,8	39,3	34,1	18,5	22,7	23,6	24,2	24,7	29,5	31,2	33,4
	<i>miscela 11</i>	54,7	40,1	41,2	34,4	16,1	22,6	23,3	25,3	24,1	30,0	29,4	33,0

Il diverso contenuto in zuccheri nelle forme a 30 giorni può essere determinato dalle diverse condizioni (tempo/temperatura) adottate durante la sosta in fascera. Dopo 60 giorni si osserva la completa fermentazione di lattosio e glucosio, e la presenza di minime quantità di galattosio residuo solo nelle lavorazioni sperimentali effettuate con l'innesto 5 e nelle relative prove testimoni. L'andamento della fermentazione degli zuccheri, simile nelle forme sperimentali e nei campioni testimoni, evidenzia come l'impiego dei due diversi innesti non influisca sulla quantità di lattosio fermentato, ma piuttosto sulla velocità con cui questo fenomeno avviene, ossia già nelle prime ore di vita del formaggio. Solo nel caseificio V questo fenomeno è più rapido in quanto portato avanti dalla attività dell'innesto selezionato commerciale. Come atteso, a 200 giorni di maturazione non sono stati rilevati zuccheri residui in nessuno dei formaggi.

**Tabella 7.** Evoluzione della composizione glucidica delle forme di SILTER durante la stagionatura (0, 30, 60, 200 giorni) del formaggio SILTER testimone e sperimentale. (nd: non determinato)

		Lattosio (g/100 g)				Glucosio (g/100 g)				Galattosio (g/100 g)			
		0	30	60	200	0	30	60	200	0	30	60	200
<b>B</b>	<i>testimone</i>	1,63	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,05	0,26	0,04	0,00
	<i>miscela 5</i>	0,71	0,00	0,00	0,00	0,13	0,00	0,00	0,00	0,47	0,07	0,03	0,00
	<i>testimone</i>	1,40	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	<i>miscela 11</i>	1,34	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
<b>R</b>	<i>testimone</i>	nd	0,04	0,00	0,00	nd	0,00	0,00	0,00	nd	0,15	0,07	0,00
	<i>miscela 5</i>	0,71	0,00	0,00	0,00	0,22	0,00	0,00	0,00	0,48	0,22	0,07	0,00
	<i>testimone</i>	0,96	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,21	0,00	0,00	0,00
	<i>miscela 11</i>	0,79	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,17	0,00	0,00	0,00
<b>V</b>	<i>testimone</i>	0,56	0,00	0,00	0,00	0,14	0,00	0,00	0,00	0,51	0,25	0,01	0,00
	<i>miscela 5</i>	1,15	0,00	0,00	0,00	0,02	0,00	0,00	0,00	0,19	0,33	0,02	0,00
	<i>testimone</i>	0,58	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,16	0,00	0,00	0,00
	<i>miscela 11</i>	0,72	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00

I livelli di acido lattico nel formaggio in maturazione sono riportati in tabella 8. I dati evidenziano come l'acido lattico raggiunga un massimo al primo mese di stagionatura per poi decrescere fino a livelli, di norma, inferiori a 0,05 g/100 g a 200 giorni. Nei campioni di formaggio a 30 giorni ottenuti utilizzando l'innesto 11, si può osservare in linea di massima un minore

quantitativo di acido lattico residuo. Come atteso, il valore massimo coincide con il periodo in cui si osserva la maggiore riduzione degli zuccheri (tabella 7). In base a quanto precedentemente detto, è possibile discriminare i formaggi ottenuti con le due miscele, ma non i formaggi sperimentali da i loro testimoni.

**Tabella 8.** Contenuto di acido lattico del formaggio SILTER testimone e sperimentale durante la stagionatura (0, 30, 60, 200 giorni).(nd: non determinato).

		Acido lattico (g/100 g)			
		0	30	60	200
<b>B</b>	<i>testimone</i>	0,07	1,28	0,06	0,06
	<i>miscela 5</i>	0,36	1,26	0,05	0,04
	<i>testimone</i>	0,05	0,78	0,06	0,05
	<i>miscela 11</i>	0,07	0,63	0,05	0,05
<b>R</b>	<i>testimone</i>	nd	1,25	0,04	0,03
	<i>miscela 5</i>	0,31	1,05	0,04	0,02
	<i>testimone</i>	0,24	0,87	0,04	0,02
	<i>miscela 11</i>	0,31	0,50	0,04	0,02
<b>V</b>	<i>testimone</i>	0,38	1,16	0,02	0,03
	<i>miscela 5</i>	0,14	0,96	0,04	0,04
	<i>testimone</i>	0,44	0,70	0,05	0,04
	<i>miscela 11</i>	0,45	0,88	0,04	0,04

#### 4.4. EVOLUZIONE DEL MICROBIOTA DURANTE LA MATURAZIONE DEL FORMAGGIO

Sul siero di fine lavorazione sono state condotte analisi microbiologiche e chimiche i cui risultati sono riportati nella tabella 9. Dal confronto con i dati relativi al latte in caldaia delle prove testimone (tabella 2), si osserva l'aumento della carica batterica totale che nel siero di fine lavorazione raggiunge valori proporzionalmente più elevati in relazione alla carica iniziale del latte affiorato. Nelle prove con l'innesto, questo effetto è particolarmente evidente per la miscela 5 mentre il siero di fine lavorazione della miscela 11 non presenta una carica sostanzialmente diversa da quella determinata dai soli microrganismi naturalmente presenti nel latte (prova testimone). I risultati delle analisi chimiche evidenziano come la quantità di grasso residuo nel siero è mediamente pari a 0,5-0,6%; in due casi tale valore raddoppia e si riferisce a caseificazioni con rapporto grasso/caseina del latte in caldaia pari 1,4-1,5. I livelli di lattosio sono congrui con quelli rilevabili in un siero presamico derivante da simili lavorazioni, quello di proteine è più alto di quello ascrivibile al solo azoto sieroproteico (circa 0,6%) e in parte dovuto a perdita di azoto caseinico.

**Tabella 9.** Principali caratteristiche chimiche e microbiologiche del siero di fine lavorazione. (nd: non determinato).

		carica batterica totale (log <sub>10</sub> ufc/mL)	grasso	lattosio (g/100 g)	proteine
<b>B</b>	<i>testimone</i>	nd	nd	nd	nd
	<i>miscela 5</i>	nd	nd	nd	nd
	<i>testimone</i>	nd	0,95	5,08	1,03
	<i>miscela 11</i>	6,14	0,57	5,12	1,03
<b>R</b>	<i>testimone</i>	5,05	0,53	5,28	0,99
	<i>miscela 5</i>	6,53	0,57	5,26	0,97
	<i>testimone</i>	6,31	0,60	5,23	1,02
	<i>miscela 11</i>	6,20	0,50	5,22	1,02
<b>V</b>	<i>testimone</i>	5,88	0,58	5,13	1,05
	<i>miscela 5</i>	6,38	1,06	5,09	1,05
	<i>testimone</i>	6,42	0,52	5,05	1,08
	<i>miscela 11</i>	6,51	0,67	5,02	1,02

Dal confronto tra i dati delle lavorazioni testimone e quelli relativi alle caseificazioni con le miscele 5 e 11 emergono interessanti differenze (tabella 10). Le caseificazioni testimone, in tutti e tre i produttori, sono caratterizzate da una importante variabilità che appare significativamente ridotta in quelle dove è stato impiegato l'innesto, confermando l'utilità dell'innesto nel guidare il processo fermentativo in caldaia. Le miscele 5 e 11 a loro volta differiscono tra di loro sia per quanto riguarda il contenuto di batteri lattici presenti, che in termini di cinetica di sviluppo nel corso della stagionatura. Nei formaggi ottenuti con impiego della miscela 5, per i tre produttori, i batteri lattici raggiungono il loro massimo sviluppo nei formaggi a 30 giorni, mentre in quelli corrispondenti alla miscela 11 mostrano un'evoluzione più lenta con valori superiori nel formaggio a 60 giorni. Tale comportamento conferma quanto evidenziato in caldaia dove l'innesto 5 si è dimostrato più performante in termini di cinetica di acidificazione. La miscela 5 è anche risultata apportare un numero maggiore di *Leuconostoc* sia in caldaia che lungo la stagionatura del formaggio. I batteri lattici appartenenti a questa specie sono eterofermentanti e al loro sviluppo consegue la formazione di composti aromatici e la formazione di microocchiatura nel formaggio. Non meno importante è il contenuto di enterococchi, batteri caratterizzanti le produzioni a latte crudo e in grado di influenzare le caratteristiche aromatiche del formaggio. Dal confronto tra le caseificazioni testimone e le rispettive caseificazioni con impiego della miscela 5 è evidente un effetto inibente di quest'ultima sullo sviluppo degli enterococchi. Si può ipotizzare che ciò sia dovuto alla maggior presenza di *Leuconostoc*, batteri spesso in grado di esercitare un effetto

inibente nei confronti del genere *Enterococcus*. Analoga considerazione non può invece essere fatta per le caseificazioni con impiego della miscela 11.

**Tabella 10.** Caratteristiche microbiologiche del formaggio SILTER testimone e sperimentale a diversi tempi di stagionatura (0, 30, 60, 200 giorni) (in basso sono riportati i valori medi  $\pm$  DS). (nd: non determinato).

		Lattococchi (log10 ufc/g)				Leuconostoc spp. (log10 ufc/g)				Enterococchi (log10 ufc/g)			
		0	30	60	200	0	30	60	200	0	30	60	200
<b>B</b>	testimone	6,85	8,20	8,46	8,76	5,18	6,28	5,70	5,79	4,60	5,00	6,60	5,60
	miscela 5	7,79	8,15	7,78	7,93	4,48	6,85	6,18	5,00	4,60	4,00	5,48	5,61
	testimone	6,76	8,08	7,04	8,32	3,00	6,70	6,15	6,06	3,00	4,60	5,70	5,67
	miscela 11	6,66	7,90	8,06	8,04	3,00	6,70	6,43	5,83	3,00	5,70	6,00	5,48
<b>R</b>	testimone	nd	8,04	8,03	6,85	nd	4,48	4,00	4,70	nd	6,48	3,00	7,01
	miscela 5	7,15	8,06	7,90	7,34	5,52	6,70	6,36	4,78	6,04	6,00	6,00	5,61
	testimone	7,45	7,56	7,85	7,20	3,00	4,70	4,00	4,48	5,04	6,11	6,48	3,00
	miscela 11	7,65	7,65	7,38	7,48	3,00	4,60	3,00	4,00	6,46	6,48	6,70	7,37
<b>V</b>	testimone	7,94	8,11	8,00	7,71	5,32	5,48	6,86	6,01	5,58	3,00	6,08	4,57
	miscela 5	7,83	8,26	7,03	7,98	4,60	6,58	4,30	3,60	4,85	5,00	5,04	4,30
	testimone	8,46	7,78	6,95	7,11	3,00	4,70	4,70	2,85	4,30	4,30	3,00	3,63
	miscela 11	6,53	7,23	7,04	7,49	3,00	4,30	5,40	4,00	4,78	3,00	4,48	4,18
<b>media <math>\pm</math> ds</b>	testimone	<b>7,39</b> $\pm 0,77$	<b>8,12</b> $\pm 0,08$	<b>8,16</b> $\pm 0,26$	<b>8,23</b> $\pm 0,96$	<b>5,25</b> $\pm 0,10$	<b>5,41</b> $\pm 0,90$	<b>5,52</b> $\pm 1,44$	<b>5,50</b> $\pm 0,70$	<b>5,39</b> $\pm 0,99$	<b>4,83</b> $\pm 1,04$	<b>5,23</b> $\pm 2,55$	<b>5,73</b> $\pm 0,99$
	miscela 5	<b>7,59</b> $\pm 0,38$	<b>8,16</b> $\pm 0,10$	<b>7,57</b> $\pm 0,47$	<b>7,75</b> $\pm 0,35$	<b>4,87</b> $\pm 0,57$	<b>6,71</b> $\pm 0,13$	<b>5,61</b> $\pm 1,14$	<b>4,46</b> $\pm 0,75$	<b>5,16</b> $\pm 0,77$	<b>5,00</b> $\pm 1,00$	<b>5,51</b> $\pm 0,48$	<b>5,18</b> $\pm 0,76$
	testimone	<b>7,62</b> $\pm 0,85$	<b>7,84</b> $\pm 0,22$	<b>7,13</b> $\pm 0,23$	<b>7,64</b> $\pm 0,62$	<b>3,00</b> $\pm 0,00$	<b>5,33</b> $\pm 1,18$	<b>4,62</b> $\pm 1,57$	<b>4,30</b> $\pm 1,63$	<b>4,59</b> $\pm 1,75$	<b>5,13</b> $\pm 1,18$	<b>5,13</b> $\pm 1,91$	<b>5,56</b> $\pm 1,87$
	miscela 11	<b>6,88</b> $\pm 0,50$	<b>7,56</b> $\pm 0,34$	<b>7,65</b> $\pm 0,54$	<b>7,58</b> $\pm 0,42$	<b>3,00</b> $\pm 0,00$	<b>5,23</b> $\pm 1,29$	<b>5,28</b> $\pm 1,22$	<b>4,77</b> $\pm 0,95$	<b>4,27</b> $\pm 1,11$	<b>4,94</b> $\pm 1,69$	<b>5,65</b> $\pm 1,04$	<b>4,22</b> $\pm 1,24$

Le analisi microbiologiche della cagliata e del formaggio in maturazione hanno anche avuto lo scopo di valutare lo sviluppo dei ceppi batterici costituenti lo starter durante il processo di caseificazione fino a 200 giorni di stagionatura e di quelli originariamente presenti nel latte. Dai campioni di cagliata e formaggio relativi alle caseificazioni eseguite con l'impiego degli starter autoctoni, sono stati isolati 290 biotipi batterici risultati prevalere nelle diverse fasi del processo, e la cui tipizzazione è stata effettuata mediante analisi di biologia molecolare. I ceppi batterici sono stati isolati, contestualmente alle analisi microbiologiche eseguite ai diversi tempi di stagionatura, da quattro differenti terreni colturali (M17 agar, MRS agar, MSE agar e HHD agar). A seguito delle analisi molecolari 238 ceppi sono stati attribuiti ad una specifica specie microbica. Come prevedibile, nei campioni di cagliata prevalgono i cocci mentre nel formaggio si osserva un progressivo aumento delle forme bastoncellari durante la stagionatura. E' interessante osservare che, per entrambe le miscele starter, non tutti i ceppi costituenti lo starter sono rilevabili ai diversi tempi, tale comportamento è analogo nelle caseificazioni sperimentali di tutti i caseifici studiati (tabella 11). Solo uno dei due ceppi di *Leuconostoc*, *Ln. mesenteroides* ST32, presente in entrambe le miscele, è in grado di moltiplicarsi e persistere nel formaggio anche a 200 giorni di stagionatura. Analoga considerazione emerge per *Lactococcus lactis*, tra i quali l'unico ceppo che si ritrova è il ST87. In associazione ai ceppi che costituiscono la miscela 11, ST87 è infatti rilevabile in tutti e tre i formaggi anche dopo 200 giorni di stagionatura, mentre quando impiegato nella miscela 5 persiste sino all'ultimo campionamento solo nel caso dell'azienda R. *Lc. lactis* ss *lactis* SL66 risalta



presente nei campioni di formaggio a 200 giorni dell'azienda V derivanti dalla miscela 11, sebbene questo microrganismo fosse stato impiegato solamente nella miscela 5. I ceppi di *Lc. lactis* ss *lactis* ST87 e ST81, che hanno mostrato una percentuale di similitudine molto elevata (99%), sono entrambi rilevabili fino a 30 giorni di stagionatura (caseificio R).

Per quanto riguarda *Streptococcus thermophilus*, il cui ruolo all'interno della miscela è quello di assicurare una pronta acidificazione della cagliata, è interessante rilevare come uno solo dei due ceppi della miscela 5 si impianta e persiste con il protrarsi della stagionatura. Al contrario, i due ceppi presenti nella miscela 11 risultano rilevabili solo nelle prime fasi di vita del formaggio dei caseifici B e R. I ceppi di *St. thermophilus* aggiunti con la miscela non sono stati ritrovati nei campioni di formaggio del caseificio V dove sono invece risultati prevalere gli enterococchi. L'isolamento di ceppi di *St. thermophilus*, *Lc. lactis* e *Ln. mesenteroides* diversi da quelli addizionati con l'innesto evidenzia la presenza e lo sviluppo di ceppi autoctoni. Questi dati confermano che, nel contesto ambientale produttivo del SILTER, il processo tecnologico di questo formaggio favorisce lo sviluppo di queste specie di batteri lattici, precedentemente individuate quali specie caratteristiche per la preparazione di miscele autoctone.

**Tabella 11.** Batteri lattici costituenti le miscele 5 e 11 rilevabili con metodi colturali nella cagliata e nel formaggio durante la stagionatura (0, 30, 60, 200 giorni).(M: composizione della miscela utilizzata)).

		miscela 5					miscela 11				
		M	0	30	60	200	M	0	30	60	200
<i>S. thermophilus</i> ST56	B										
	R										
	V										
<i>S. thermophilus</i> ST182	B										
	R										
	V										
<i>S. thermophilus</i> ST383	B										
	R										
	V										
<i>S. thermophilus</i> ST421	B										
	R										
	V										
<i>Ln. pseudomesenteroides</i> ST23	B										
	R										
	V										
<i>Ln. mesenteroides</i> ST32	B										
	R										
	V										
<i>Lc. lactis</i> ST87	B										
	R										
	V										
<i>Lc. lactis</i> ST81	B										
	R										
	V										

Considerando i 238 batteri lattici isolati nel loro insieme, si evidenzia che l'innesto influenza solo in parte lo sviluppo del microbiota del formaggio in termini di specie presenti (tabella 12). Complessivamente sono state individuate 17 differenti specie di batteri lattici, con una prevalenza di ceppi di forma bastoncellare (61,8 %) rispetto a quelli di forma coccica (38,2 %), nonostante queste ultime (12) siano risultate più numerose rispetto a quelle bastoncellari. *Lactobacillus* è il genere prevalente (146 ceppi); in particolare, *Lb. paracasei* ss *paracasei* è la specie maggiormente presente (124 ceppi) ed è stata riscontrata in tutti i formaggi a 30, 60 e 200 giorni di stagionatura dei 3 diversi caseifici sia per la miscela 5 che nella miscela 11, ad eccezione del formaggio a 30 giorni dell'azienda R con miscela 5. In tutti i caseifici è stata, inoltre, dimostrata la presenza di *Lb. plantarum* a diversi stadi della stagionatura. I rimanenti ceppi appartenenti a

*Lactobacillus* spp. provenivano dall'azienda V. Unico rilievo correlabile con l'impiego delle miscele starter è la presenza di *Lb. brevis* e *Lb. fermentum* esclusivamente in campioni di formaggio a 200 giorni nei formaggi ottenuti con impiego della miscela 5 e di due ceppi di *Lb. parabuchneri* da un campione di formaggio a 200 giorni ottenuto con impiego dalla miscela 11.

**Tabella 12.** Batteri lattici rilevabili con metodi colturali durante la stagionatura (0, 30, 60, 200 giorni) dei formaggi ottenuti con le miscele 5 e 11.

		miscela 5				miscela 11			
		0	30	60	200	0	30	60	200
<i>Lc. garviae</i>	B								
	R								
	V								
<i>Lc. lactis</i>	B								
	R								
	V								
<i>Lc. lactis</i> ss <i>lactis</i>	B								
	R								
	V								
<i>Ln. lactis</i>	B								
	R								
	V								
<i>Ln. mesenteroides</i>	B								
	R								
	V								
<i>St. equinus</i>	B								
	R								
	V								
<i>St. thermophilus</i>	B								
	R								
	V								
<i>St. uberis</i>	B								
	R								
	V								
<i>Lb. brevis</i>	B								
	R								
	V								
<i>Lb. fermentum</i>	B								
	R								
	V								
<i>Lb. parabuchneri</i>	B								
	R								
	V								
<i>Lb. paracasei</i> ss <i>paracasei</i>	B								
	R								
	V								
<i>Lb. plantarum</i>	B								
	R								
	V								
<i>Enterococcus</i> spp.	B								
	R								
	V								

Tra i cocchi, i lattococchi sono stati i più rappresentati (36 ceppi), seguiti da *Leuconostoc* (28), *Streptococcus* (18) ed *Enterococcus* (9). Tra i lattococchi, *Lc. lactis* è stato riscontrato nei

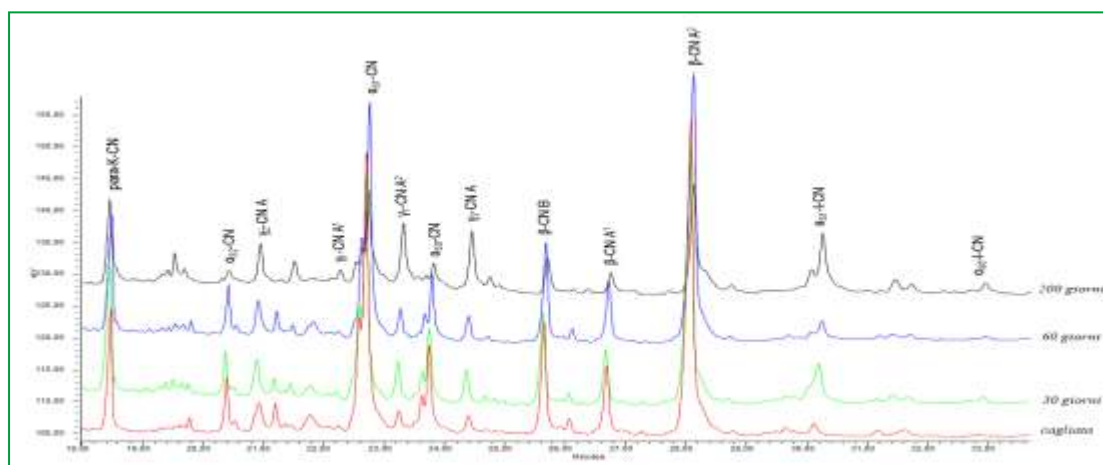
campioni di formaggio delle tre aziende, mentre *Lc. garvieae* è stato trovato sporadicamente, in campioni derivanti dalla miscela 5 dei caseifici B e R. La presenza di *St. uberis* e *St. equinus*, da attribuirsi ad una contaminazione di origine animale, è stata dimostrata in diversi campioni dell'azienda B.

#### 4.5. STUDIO DELL'EVOLUZIONE DEI FENOMENI MATURATIVI DEL FORMAGGIO

La maturazione del formaggio procede secondo complessi fenomeni chimici e biochimici che determinano vari aspetti qualitativi del prodotto finale. Ai fenomeni biochimici sono ascrivibili la lipolisi, ossia l'idrolisi dei trigliceridi con liberazione di acidi grassi ad opera di lipasi, la proteolisi con degradazione delle proteine a composti di peso molecolare ridotto fino ad amminoacidi e la glicolisi del lattosio. I prodotti finali di questi fenomeni (amminoacidi, acidi grassi, lattato), costituiscono a loro volta il substrato per ulteriori trasformazioni e reazioni chimiche supportate dall'azione di variegata attività enzimatiche. Alla proteolisi consegue anche la progressiva modifica della struttura del formaggio che a fine maturazione acquisisce le tipiche caratteristiche di struttura. Piccoli peptidi e amminoacidi contribuiscono direttamente al flavour del formaggio e gli amminoacidi sono a loro volta il substrato per numerose reazioni che portano alla formazione di altre molecole responsabili dell'aroma. In questo Progetto, l'evoluzione dei fenomeni proteolitici durante la maturazione e il loro quadro nel formaggio è stato valutato attraverso i profili ottenuti per elettroforesi capillare zonale (CZE) di caseine intatte e peptidi nelle cagliate e nei formaggi SILTER a 30, 60 e 200 giorni di stagionatura prodotti dai tre caseifici.

L'attività litica a carico delle caseine viene esercitata da proteasi endogene del latte (plasmina) e da proteasi e peptidasi esogene provenienti dal caglio (chimosina) o dai batteri costituenti la microflora nativa o innestata del latte. Nella cagliata e nel formaggio, l'attività residua della chimosina, responsabile della coagulazione presamica del latte, è connessa al tipo di lavorazione della cagliata adottato. In particolare, la chimosina è inattivata dal calore (circa 55 °C), quindi nei formaggi a pasta cotta quali il SILTER la sua attività viene ridotta. Il latte stesso contiene proteasi come la plasmina che, contrariamente alla chimosina, assume un ruolo rilevante nella maturazione dei formaggi a pasta cotta, lisando preferenzialmente la  $\beta$ -caseina. Un ruolo fondamentale nella proteolisi del formaggio è infine associato alla attività delle proteasi batteriche dei microorganismi starter e non starter. In particolare, i batteri lattici presentano un corredo enzimatico in grado di attaccare proteine e peptidi fino alla liberazione di singoli amminoacidi. Questo tipo di attività è particolarmente importante quando riferita alla azione della microflora endogena del latte, caratteristica soprattutto dei formaggi a latte crudo quali il SILTER. Alla loro attività (non solo proteolitica) è stato associato lo sviluppo delle peculiari caratteristiche sensoriali dei formaggi a latte crudo, soprattutto di montagna.

A titolo esemplificativo nella figura 3 vengono riportati i tracciati CZE dei campioni di cagliata e formaggio ottenuti dalle lavorazioni testimone presso il caseificio R. Da tale approccio analitico risulta che il latte di partenza, prodotto principalmente da vacche di razza Bruna, è mediamente caratterizzato da un contenuto abbondante in  $\beta$ -CN B (19% su  $\beta$ -CN totale nel latte del caseificio R) e povero in  $\beta$ -CN A<sup>1</sup> (13% su  $\beta$ -CN totale sempre nel latte del caseificio R) rispetto a un tipico latte di Frisona.



**Figura 3.** Evoluzione del profilo CZE caseinico e peptidico durante la stagionatura del SILTER..

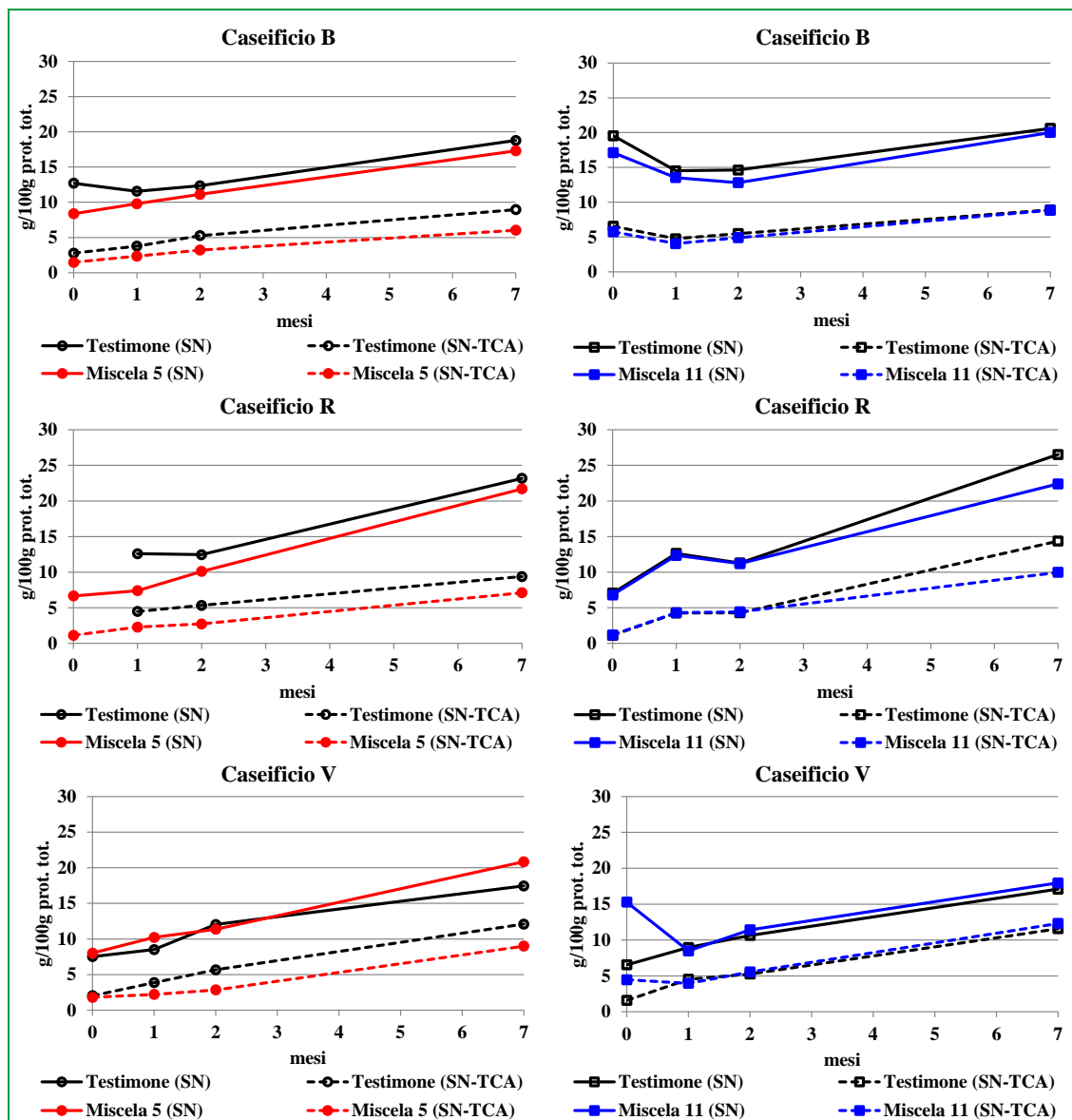
Come si può osservare dai tracciati della figura 3 e dalla tabella 13, le frazioni caseiniche inizialmente idrolizzate sono  $\beta$ -CN,  $\alpha_{s1}$ -CN e  $\alpha_{s0}$ -CN. Nella cagliata appare già rilevabile la  $\gamma$ -CN a

testimonianza di una attività plasminica a carico della  $\beta$ -CN. Al contrario, non si osservano particolari peptidi di neoformazione nei tracciati CZE dei formaggi a 60 giorni che presentano un quadro proteolitico classico di un formaggio a pasta dura e cotta con formazione progressiva di  $\gamma$ -CN dalle  $\beta$ -CN e di  $\alpha_{s1}$ -I-CN e  $\alpha_{s0}$ -I-CN rispettivamente da  $\alpha_{s1}$ -CN  $\alpha_{s0}$ -CN. La degradazione di  $\alpha_{s1}$ -CN e  $\alpha_{s0}$ -CN è legata fondamentalmente all'azione della chimosina che residua nella cagliata e, in parte minore, a proteasi da starter lattici. Infatti, la variabilità dell'intensità proteolitica (misurata mediante i rapporti di area  $\alpha_{s1/0}$ -I-CN/ $\alpha_{s1/0}$ -CN) intracaseificio (tra i testimoni) non consente di evidenziare differenze significative con le corrispondenti prove sperimentali (innesto 5 e 11) e testimoni (tabella 13). Lo stesso discorso vale quando si considera il rapporto  $\gamma$ -CN/ $\beta$ -CN e, quindi, l'intensità della proteolisi ad opera della plasmina. Questo rapporto può essere influenzato anche dall'utilizzo di caldaie di rame (caseificio R) o di acciaio (caseifici B e R). Con il progredire della maturazione, la lisi delle caseine continua in tutte le tesi sperimentate. Tuttavia, nei caseifici B e R, questa proteolisi risulta sempre più intensa nel campione testimone a riprova della maggiore attività litica della microflora non starter. Al contrario, nel caso del caseificio V sono i formaggi sperimentali prodotti con l'innesto autoctono a presentare una maggiore proteolisi indipendentemente dalla miscela utilizzata.

**Tabella 13.** Indici di proteolisi (rapporti tra aree di prodotti di neoformazione e rispettive frazioni di origine) durante la stagionatura del formaggio SILTER testimone e sperimentale.

		$\frac{\gamma\text{-CN}}{\beta\text{-CN}}$				$\frac{\alpha_{s1}\text{-I-CN}}{\alpha_{s1}\text{-CN}}$				$\frac{\alpha_{s0}\text{-I-CN}}{\alpha_{s0}\text{-CN}}$			
		0	30	60	200	0	30	60	200	0	30	60	200
<b>B</b>	<i>testimone</i>	15	22	30	70	2	7	31	86	1	8	20	57
	<i>miscela 5</i>	12	19	25	60	2	5	21	60	0	6	13	36
	<i>testimone</i>	15	29	40	73	1	18	38	90	1	13	32	76
	<i>miscela 11</i>	15	29	36	85	1	11	18	51	1	7	15	39
<b>R</b>	<i>testimone</i>	nd	23	30	112	nd	5	18	57	nd	6	10	54
	<i>miscela 5</i>	12	19	25	83	2	6	18	63	1	6	10	46
	<i>testimone</i>	12	23	28	83	1	12	18	63	1	7	18	46
	<i>miscela 11</i>	11	22	27	93	1	12	24	57	1	7	22	54
<b>V</b>	<i>testimone</i>	14	17	19	34	2	7	20	33	1	7	12	27
	<i>miscela 5</i>	12	18	21	63	2	10	29	156	1	10	16	89
	<i>testimone</i>	11	18	19	43	1	13	16	42	0	8	15	25
	<i>miscela 11</i>	13	18	25	50	1	11	24	56	1	6	19	31

La determinazione delle frazioni azotate solubili ha permesso di valutare ulteriormente l'andamento della proteolisi del formaggio SILTER durante la stagionatura. Sono state determinate: 1) la frazione azotata solubile a pH 4,4 (SN) che comprende sieroproteine non denaturate, proteosopeptoni, peptidi a basso peso molecolare, amminoacidi, ammine, urea e ammoniaca e 2) la frazione solubile in acido tricloracetico (SN-TCA) costituita da peptidi composti da 2-22 amminoacidi, amminoacidi, ammine, urea e ammoniaca. Nella figura 4 sono riportati gli andamenti dei livelli di SN e SN-TCA durante la stagionatura dei campioni di SILTER.

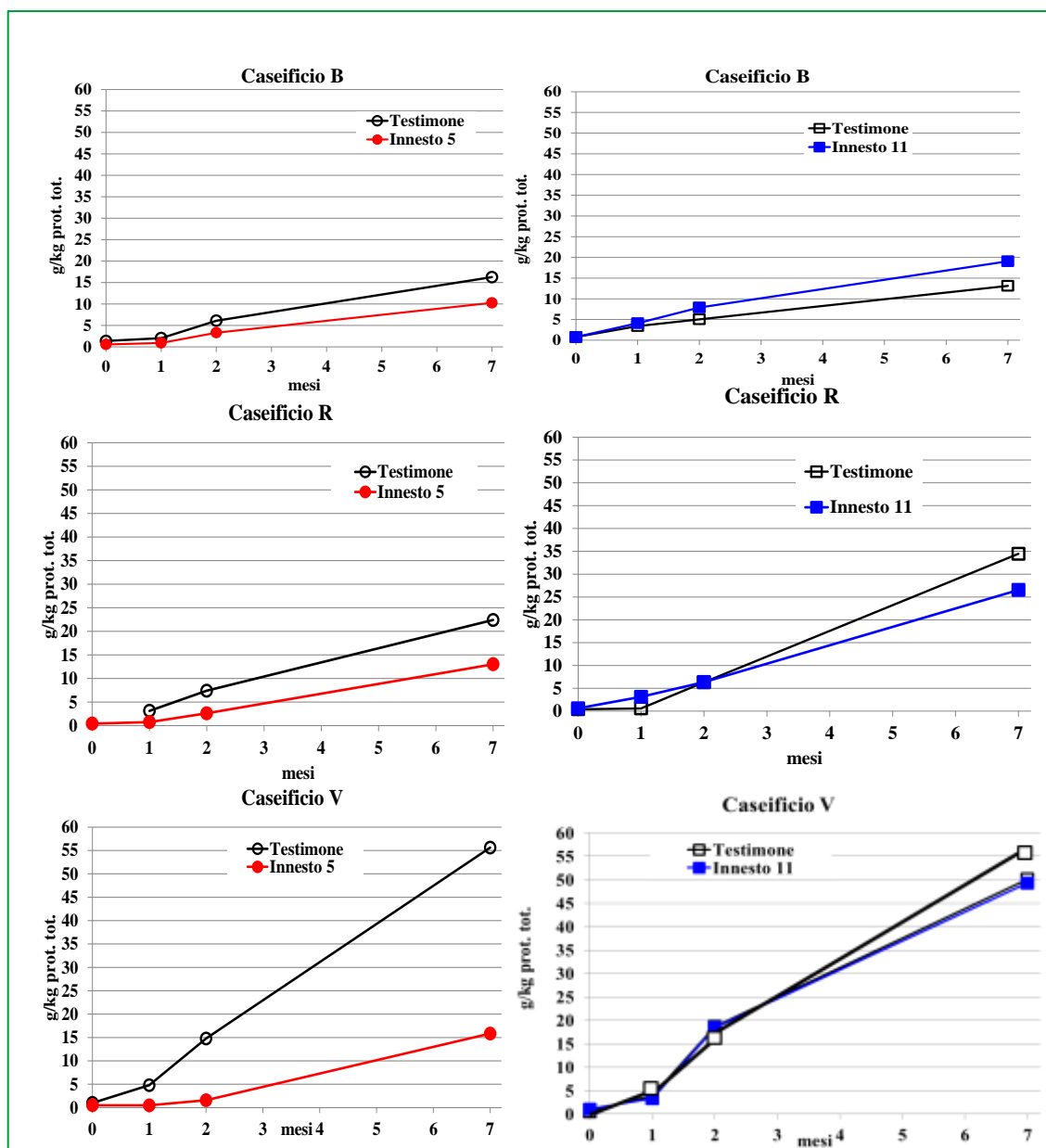


**Figura 4.** Livelli di SN e SN-TCA durante la stagionatura del formaggio SILTER testimone e sperimentale. TN= azoto totale; SN= azoto solubile a pH 4,4; SN-TCA= azoto solubile in acido tricloroacetico.

Si riscontra una variabilità tra i caseifici; infatti, considerando tutti i formaggi, la frazione SN in B e V è il 17-21% delle proteine totali, in R raggiunge il 22-27%. Dai grafici è possibile osservare che nei formaggi prodotti nei caseifici B e R mediante l'utilizzo della miscela 5, i livelli delle componenti azotate solubili risultano minori rispetto a quelle riscontrabili nei rispettivi testimoni. La proteolisi in questi campioni è quindi ridotta, confermando quanto mediante evidenziato dall'analisi CZE.

Nel caseificio V, il formaggio a fine stagionatura prodotto con la miscela 5 presenta un quantitativo di azoto solubile maggiore del suo testimone, ma la componente SN-TCA risulta minore. Da ciò si deduce che la proteolisi non è avvenuta in modo spinto in quanto non ha prodotto composti azotati di piccole dimensioni. Risultati analoghi caratterizzano il confronto tra i formaggi sperimentali ottenuti con la miscela 11 e i rispettivi testimoni. Quanto detto è confermato anche dal differente contenuto in amminoacidi liberi dei formaggi di ogni caseificio, come evidenziato in figura 5.





**Figura 5.** Evoluzione del contenuto totale di aminoacidi liberi durante la stagionatura del formaggio SILTER testimone e sperimentale.

Infatti, se per il caseificio B il contenuto in aminoacidi liberi si colloca nell'intervallo 10-20 g/kg di proteina totale, per il caseificio R è di 13-34 g/kg e per V è 16-55 g/kg. Analizzando le differenze tra le miscele testate e le condizioni testimone di lavorazione, risulta che l'innesto 5 causa un rallentamento della liberazione di aminoacidi rispetto alla miscela 11 che è, di norma, più attiva rispetto alla lavorazione testimone. Per il caseificio V la differenza tra il campione testimone e quello ottenuto con l'innesto 5 è sostanziale, tanto che il livello di aminoacidi liberi nel primo campione è quasi quattro volte superiore al secondo.

Osservando i precedenti grafici è anche possibile osservare che l'andamento degli eventi proteolitici sono minimi nel primo mese di stagionatura, hanno un incremento spinto nel secondo mese per poi ridursi progressivamente col tempo. Si osserva inoltre che l'innesto 11 provoca un andamento più lineare della proteolisi, eccezion fatta per quello del caseificio V che mostra un andamento coincidente con quello del rispettivo confronto.

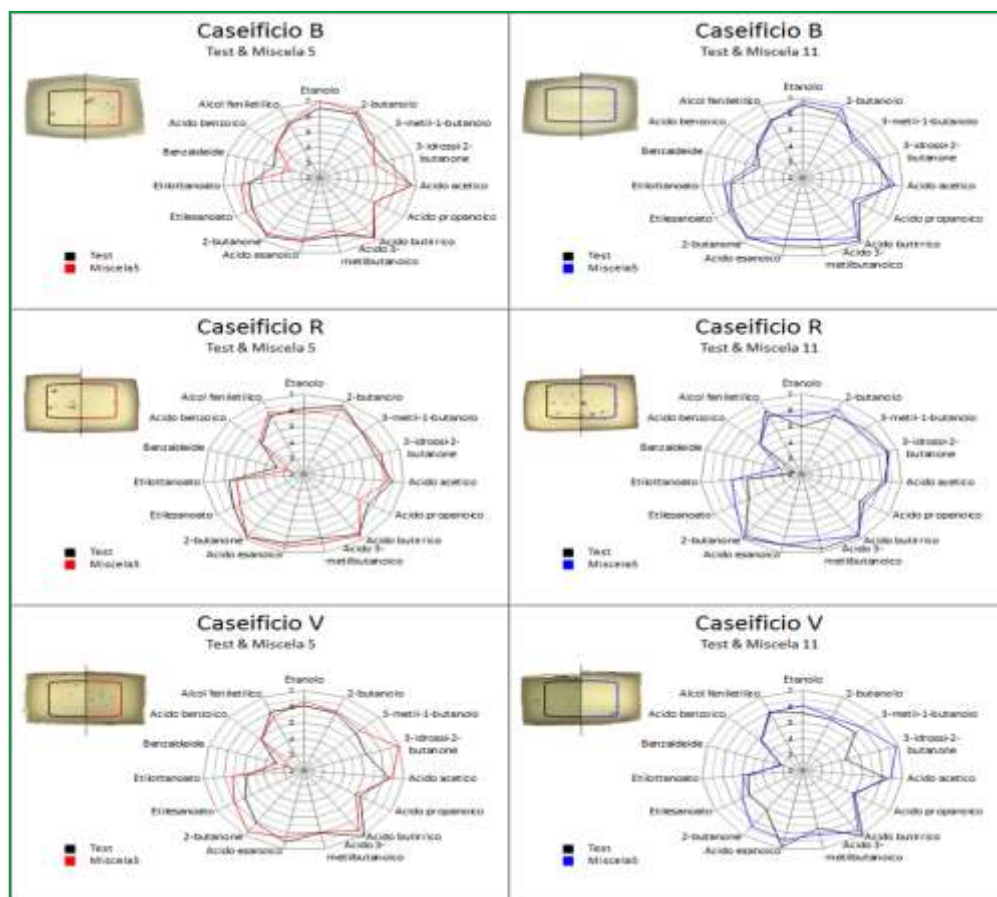
Calcolando il contenuto percentuale relativo di ogni singolo aminoacido si evidenzia che gli aminoacidi liberi predominanti sono acido glutammico, leucina e lisina. In particolare l'acido glutammico, nelle forme di SILTER a 7 mesi di stagionatura, raggiunge il 20% del contenuto totale di

amminoacidi liberi. Fanno eccezione campioni prodotti nel caseificio B che presentano valori pari a circa il 15% per i formaggi ottenuti con le due miscele starter, ovvero attorno al 3% per i formaggi testimone. In generale, nei formaggi si riscontra che ad un basso valore di acido glutammico corrisponde un valore maggiore di acido  $\gamma$ -amino-butyrico (GABA). Il GABA è originato dal metabolismo dei microrganismi che lo producono con lo scopo di controllare il pH dell'ambiente in cui vivono. Alti livelli di GABA caratterizzano formaggi che hanno subito fermentazioni gasogene da clostridi. Dai dati raccolti, si evidenzia l'assenza del GABA fino a 2 mesi di stagionatura. Esso costituisce, di norma, circa il 7% degli amminoacidi liberi totali per le forme del caseificio B, ad eccezione della prima lavorazione testimone dove raggiunge il 13%, e circa il 4% per quelle del caseificio R. Le forme prodotte dal caseificio V presentano un contenuto inferiore allo 0,5%. Inoltre, utilizzando la miscela 5 si riscontra una netta riduzione di questo amminoacido che resta sotto l'1%, a causa di un minore sviluppo di batteri clostridi.

#### 4.6. STUDIO DELLE SOSTANZE ORGANICHE VOLATILI PRESENTI NEL GRASSO DEL FORMAGGIO

Per l'analisi della frazione volatile del formaggio a 200 giorni di stagionatura è stata utilizzata la tecnica della microestrazione in fase solida (SPME) abbinata alla spettrometria di massa (GC/MS). Nei campioni di formaggio analizzati sono stati riconosciuti circa 50 composti appartenenti a chetoni, alcoli, esteri, acidi e aldeidi. Questi composti sono originati dal metabolismo dei microrganismi, in particolare derivano dalle fermentazioni degli zuccheri, dalla degradazione degli acidi grassi, dalla metabolizzazione degli amminoacidi e dal metabolismo del citrato. Il 2-butanone, così come il diacetile e l'acetoino, sono prodotti della via metabolica del citrato. I metilchetoni (2-pentanone, 2-eptanone e 2-nonanone) derivano dalla  $\beta$ -ossidazione e decarbossilazione degli acidi grassi liberi. In generale, gli alcoli primari possono derivare dalla riduzione delle corrispondenti aldeidi e gli alcoli secondari dalla riduzione dei corrispondenti chetoni. L'etanolo è il prodotto di una delle possibili fermentazioni microbiche del lattosio, mentre il 3-metil-1-butanolo deriva dal metabolismo dell'amminoacido leucina. Gli acidi grassi volatili a catena lineare si formano sia per lipolisi del grasso, che da metabolismo microbico, mentre quelli a catena ramificata, isobutirrico ed isopentanoico, originano dal catabolismo microbico degli amminoacidi valina e leucina, rispettivamente. Gli etilesteri, responsabili nell'aroma delle note di fruttato, si formano dall'azione di enzimi esterasi di origine microbica.

Tra i composti volatili identificati sono stati considerati solo quelli ritenuti più rappresentativi dei processi di maturazione del formaggio SILTER. In Figura 6 sono riportati i radar plot relativi ai diversi campioni sperimentali ottenuti nei 3 caseifici.



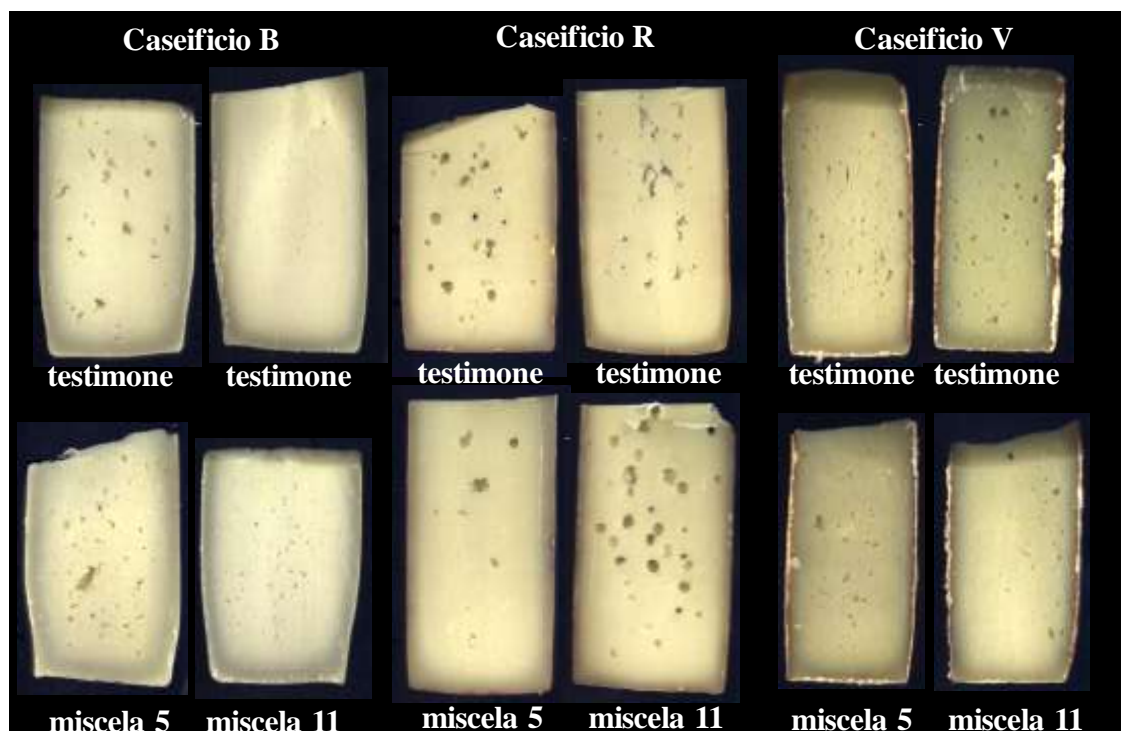
**Figura 6.** Principali composti volatili rilevati nel formaggio SILTER testimone e sperimentale a 200 giorni di stagionatura.

Si può osservare come non si evidenzino particolari differenze tra le coppie di campioni ottenuti nei caseifici B e R. Diverso è il caso dei campioni del caseificio V per i quali il profilo dei

composti volatili appare distinto tra formaggio testimone e relativo formaggio ottenuto con l'innesto autoctono. Questo dato conferma la netta differenza nel processo maturativo e quindi anche nel profilo dei volatili determinato nel formaggio dai microrganismi autoctoni rispetto a quelli industriali utilizzati dal caseificio V per la preparazione dei formaggi testimone. Lo stesso non si verifica per i campioni degli altri due caseifici prodotti senza l'utilizzo di alcun innesto. In questi casi, l'utilizzo dell'innesto autoctono ha consentito di non alterare il processo maturativo anche in termini di molecole volatili. Nello stesso tempo, i risultati evidenziano un maggiore contenuto di etanolo nei formaggi ottenuti con gli innesti sperimentali rispetto ai corrispondenti formaggi "testimone" confermando il maggiore sviluppo di *Leuconostoc* nei primi. Nel complesso, i profili aromatici risultano variabili non solo tra i diversi caseifici, ma anche tra i campioni testimoni di ogni caseificio.

#### 4.7. TEST DI ASSAGGIO DEI FORMAGGI

Al fine di ottenere una valutazione qualitativa più dettagliata, i formaggi a 200 giorni di stagionatura sono stati sottoposti al giudizio sensoriale di 15 produttori di SILTER aderenti al Consorzio. L'aspetto visivo dei formaggi è evidenziato di seguito



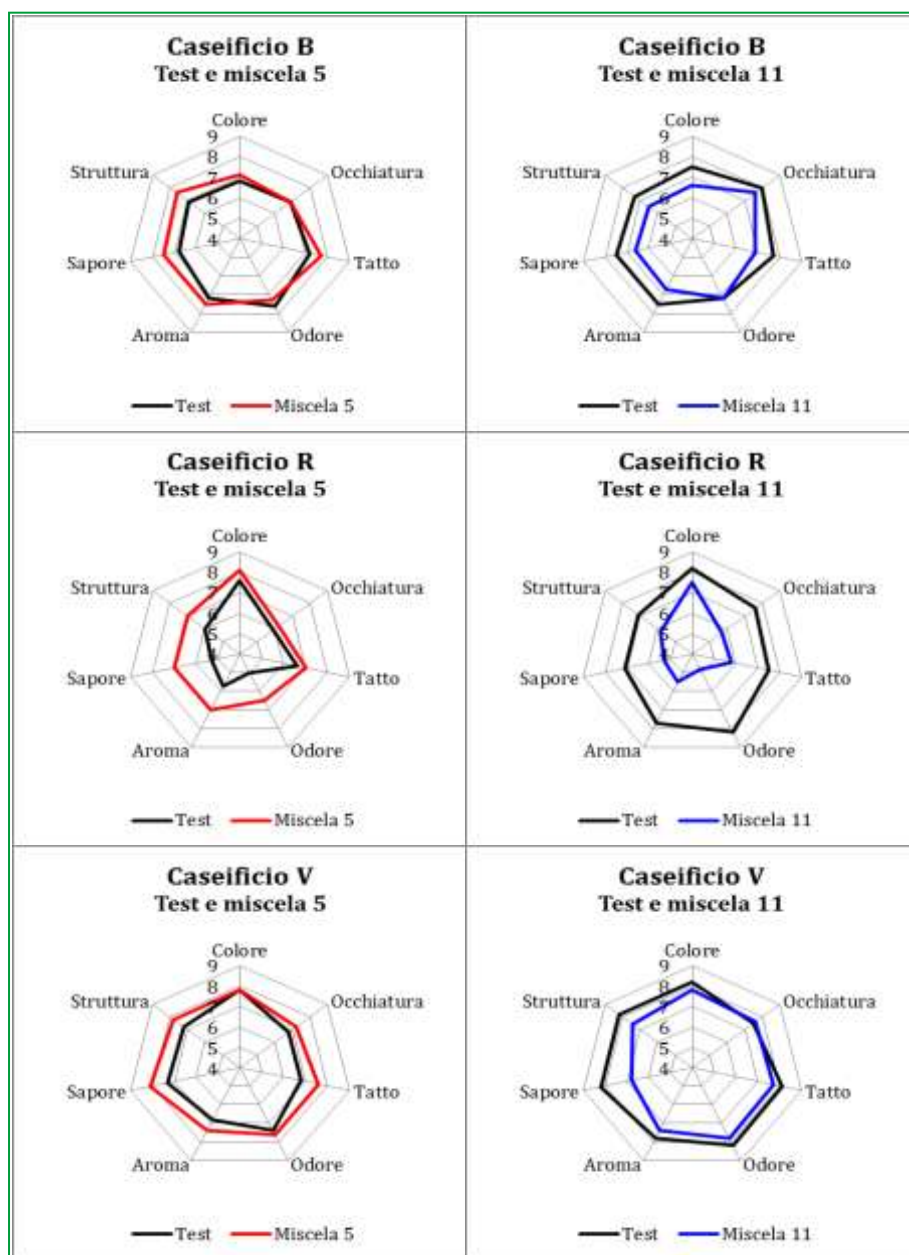
I campioni opportunamente porzionati e presentati in maniera incognita sono stati giudicati valutando i parametri inclusi nella scheda di valutazione adottata dal Consorzio per la valutazione qualitativa del SILTER. Questa scheda viene utilizzata anche in occasione della manifestazione annuale che il Consorzio stesso organizza per premiare i migliori formaggi prodotti dai propri consorziati. I giudizi medi per i diversi tratti sensoriali sono rappresentati in figura 7.

I risultati appaiono per certi versi sorprendenti in quanto il formaggio ottenuto con la miscela 5 ottiene un giudizio migliore del relativo testimone per la totalità dei tratti sensoriali considerati, indipendentemente dal caseificio di produzione. Come evidenziato nella figura 8, tale giudizio è rafforzato dalla percentuale di assaggiatori che, richiesti di esprimere un parere complessivo di qualità, hanno valutato migliore il formaggio ottenuto con la miscela 5. E' interessante notare come la minore percentuale (12%) di preferenza abbia riguardato il formaggio testimone prodotto dal caseificio V utilizzando un generico innesto commerciale. E' interessante anche notare come tra i formaggi testimone il meno apprezzato sia stato quello del caseificio R, caratterizzato come precedentemente descritto da un grado di proteolisi maggiore in termini di SN e SN-TCA.

I giudizi ottenuti dai formaggi prodotti con la miscela 11 appaiono diametralmente opposti, non ottenendo per nessuno dei tratti sensoriali valutati e in nessuno dei confronti un giudizio migliore dei prodotti testimoni. Questi dati sono supportati anche dal giudizio complessivo di qualità espresso dal 53% ovvero dal 100% degli assaggiatori a favore del formaggio testimone prodotto rispettivamente dal caseificio B e R. Ancora una volta invece, il formaggio preparato con l'innesto commerciale dal caseificio V non viene preferito al formaggio sperimentale prodotto con la miscela 11.

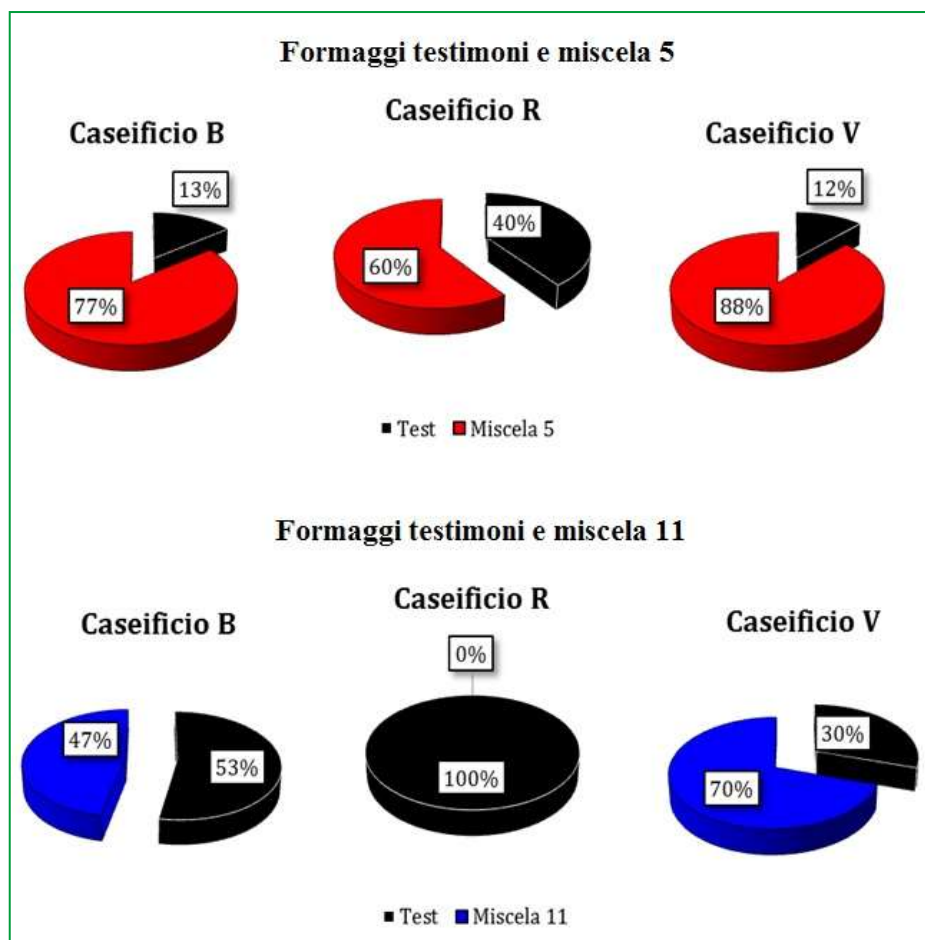
Nel complesso i risultati dell'analisi sensoriale rafforzano l'ipotesi che l'utilizzo di innesti autoctoni non determina lo svilimento di alcune caratteristiche sensoriali tipiche del formaggio SILTER. Al contrario, l'utilizzo di generiche formulazioni batteriche del commercio comporta un cambiamento significativo e peggiorativo di tali caratteristiche, che risultano meno accettabili anche

quando confrontate con quelle del formaggio derivante dall'utilizzo della miscela autoctona 11, ancorché meno performante della 5 in termini di proprietà sensoriali determinate nel SILTER a 200 giorni di maturazione.



**Figura 7.** Valutazione sensoriale dei campioni di formaggio testimone e sperimentali secondo i parametri inclusi nella scheda di valutazione adottata dal Consorzio per la valutazione qualitativa del Silter.





**Figura 8.** Grado di preferenza per i campioni di formaggio testimone e sperimentali espresso dagli assaggiatori.

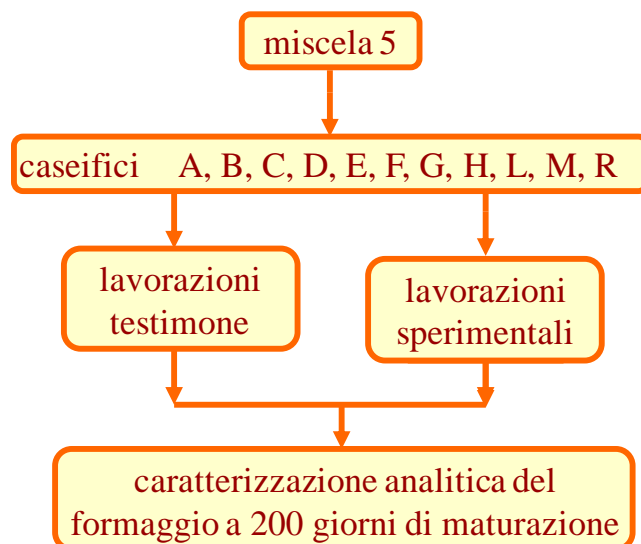
Complessivamente, i risultati della Fase II del Progetto evidenziano alcune differenze tra le caratteristiche chimiche e microbiologiche di latte, cagliata e formaggio SILTER prodotti dai tre caseifici studiati. Parte di queste differenze risultano connaturate con le pratiche artigianali, dalla raccolta del latte alla stagionatura del formaggio, adottate nelle filiere di preparazione di formaggi a latte crudo. Gli stessi risultati indicano che l'introduzione di starter autoctoni determina una migliore gestione di alcuni punti critici del processo di caseificazione apportando microflora filocasearia e, in alcuni casi, migliorare le caratteristiche qualitative del formaggio SILTER. In particolare, la miscela 5 è risultata la più performante in quanto caratterizzata da un maggiore sviluppo dei microrganismi lattici innestati e capace di migliorare le caratteristiche sensoriali dei formaggi prodotti mediante il suo impiego. Nel complesso, i risultati evidenziano l'utilità degli innesti autoctoni quali ausilio per la corretta conduzione della caseificazione e quindi per l'ottenimento di formaggi con le caratteristiche desiderate, senza standardizzare la produzione. I formaggi dei diversi produttori, presso i quali sono stati sperimentati gli starter, sono risultati infatti distinguibili tra loro, dimostrando come, nonostante l'impiego delle stesse miscele di fermenti, l'identità di ciascuna azienda risulti comunque preservata e confermando che le caratteristiche dell'allevamento e la pratica casearia rappresentano elementi determinanti nella definizione dei tratti qualitativi del formaggio SILTER. Su queste basi, è stata avviata la produzione industriale della miscela autoctona liofilizzata 5, usata per le successive Fasi del Progetto, nella forma commerciale da 1 o 5 unità caldaia (UC) riportante il logo del Consorzio di Tutela (figura 9).



**Figura 9.** Forma commerciale della miscela 5 di batteri autoctoni sviluppata all'interno del Progetto.

## 5. FASE III - Sperimentazione della miscela 5 presso undici caseifici

In questa Fase del Progetto, la miscela 5 di batteri autoctoni è stata utilizzata da undici caseifici aderenti al Consorzio e comprendenti i caseifici B e R già studiati in precedenza, secondo il seguente piano sperimentale:



La composizione centesimale dei formaggi a 200 giorni ottenuti presso i diversi caseifici è riportata nella Tabella 14.

Come è possibile osservare, il valore di umidità del formaggio si colloca nell'intervallo 31,23-41,50% con un valore medio pari a 35,78%. L'umidità dei formaggi prodotti con l'utilizzo o meno della miscela 5 risulta comparabile solo in cinque dei caseifici studiati. Nei rimanenti, i formaggi presentano valori abbastanza diversi con il formaggio prodotto con la miscela 5 che presenta, ad eccezione del caseificio D, un contenuto di acqua inferiore al prodotto testimone. A parità di condizioni di stagionatura e salatura, tali differenze possono essere giustificate anche da un maggior spurgo iniziale della cagliata determinato dal processo di acidificazione operato dalla miscela di batteri autoctoni. Il contenuto in proteine varia da 29,91% a 41,15% (mediamente 35,67%), ad eccezione dei campioni prodotti nei caseifici E, R, F e C, i dati ottenuti per i formaggi sperimentali e testimone risultano sovrapponibili. Il contenuto in grasso risulta particolarmente eterogeneo compreso tra 17,61 e 31,66% e mediamente pari a 23,32%. Quando espresso sulla materia secca questo contenuto oscilla nell'intervallo 27,49-46,04%, a dimostrazione di una grande eterogeneità nel rapporto grasso/caseina del latte di partenza imputabile alla grande variabilità delle tecniche di affioramento e spillatura del latte dalle bacinelle prima dell'immissione in caldaia. Tale eterogeneità è un fattore intrinseco la tecnologia tradizionale di produzione di ciascun caseificio e, come tale, è riconosciuta nel Disciplinare che prevede valori di grasso sul secco compresi tra 27 e 45%; in questo intervallo non rientra solo il campione B-testimone.

I formaggi analizzati contengono mediamente il 2,04% di NaCl, tuttavia con oscillazioni tali da determinare in alcuni campioni un livello di sale doppio rispetto ad altri. Tali differenze sono imputabili al processo di salatura che, come previsto dal Disciplinare, può essere effettuato a mano per asperzione del sale o in salamoia per 4-10 giorni. Ovviamente la penetrazione del sale dipende anche da altri fattori (concentrazione della salina, umidità e forma del formaggio, temperatura di salamoia e formaggio) difficilmente standardizzabili anche all'interno di un stesso caseificio. Nel complesso, i risultati ottenuti evidenziano una chiara eterogeneità compositiva da considerarsi naturale per questo tipo di formaggio e che, tuttavia, non deve essere sottovalutata al fine di rendere più omogeneo e riconoscibile il prodotto. Aspetto non trascurabile, questa difformità comporta importanti differenze da un punto di vista nutrizionale determinando un apporto calorico molto variabile tra i diversi formaggi, essendo compreso tra 309 e 410 kcal/100 g.

**Tabella 14.** Composizione del formaggio SILTER (200 giorni di stagionatura) testimone e sperimentale prodotto da diversi caseifici aderenti al Consorzio di Tutela. (SS: sostanza secca, nd: non determinato).

		Umidità	Grasso	Proteine (g/100 g)	Ceneri	NaCl	Grasso	Proteine (g/100 g SS)	Ceneri
<b>M</b>	<i>testimone</i>	32,16	29,78	33,85	4,77	1,87	43,90	49,90	7,03
	<i>miscela 5</i>	32,85	29,51	33,30	4,50	1,65	43,95	49,59	6,70
<b>D</b>	<i>testimone</i>	35,02	21,34	37,54	5,48	2,27	32,84	57,77	8,43
	<i>miscela 5</i>	37,78	18,97	37,31	5,38	2,33	30,49	59,96	8,65
<b>E</b>	<i>testimone</i>	39,64	17,88	37,00	5,30	2,29	29,62	61,30	8,78
	<i>miscela 5</i>	36,68	17,90	40,28	5,10	1,43	28,27	63,61	8,05
<b>H</b>	<i>testimone</i>	35,92	26,32	31,89	4,73	1,91	41,07	49,77	7,38
	<i>miscela 5</i>	32,80	30,59	32,10	4,41	1,59	45,52	47,77	6,56
<b>B</b>	<i>testimone</i>	31,23	31,66	32,23	4,98	1,97	46,04	46,87	7,24
	<i>miscela 5</i>	31,86	29,89	32,73	5,16	2,24	43,87	48,03	7,57
<b>R</b>	<i>testimone</i>	39,17	19,12	36,17	4,85	2,06	31,43	59,46	7,97
	<i>miscela 5</i>	34,86	18,30	40,68	5,97	3,16	28,09	62,45	9,16
<b>F</b>	<i>testimone</i>	34,60	27,07	33,58	5,22	2,71	41,39	51,35	7,98
	<i>miscela 5</i>	32,69	27,44	35,21	4,89	2,22	40,77	52,31	7,26
<b>G</b>	<i>testimone</i>	35,07	19,78	40,10	4,88	1,48	30,46	61,76	7,52
	<i>miscela 5</i>	35,94	17,61	41,15	5,73	2,13	27,49	64,24	8,94
<b>L</b>	<i>testimone</i>	35,75	23,07	36,31	4,79	1,37	35,91	56,51	7,46
	<i>miscela 5</i>	35,99	22,23	36,09	5,04	2,05	34,73	56,38	7,87
<b>C</b>	<i>testimone</i>	41,50	18,87	34,44	4,54	1,42	32,26	58,87	7,76
	<i>miscela 5</i>	39,30	18,61	37,14	4,76	1,57	30,66	61,19	7,84
<b>A</b>	<i>testimone</i>	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
	<i>miscela 5</i>	40,63	23,70	29,91	5,26	3,08	39,92	50,38	8,86
<b>media ± ds</b>	<i>testimone</i>	<b>36,01</b> ± 3,24	<b>23,49</b> ± 4,91	<b>35,31</b> ± 2,57	<b>4,95</b> ± 0,29	<b>1,94</b> ± 0,42	<b>36,49</b> ± 6,07	<b>55,36</b> ± 5,39	<b>7,76</b> ± 0,54
	<i>miscela 5</i>	<b>35,58</b> ± 2,89	<b>23,16</b> ± 5,3	<b>35,99</b> ± 3,75	<b>5,11</b> ± 0,47	<b>2,13</b> ± 0,58	<b>35,80</b> ± 7,13	<b>55,99</b> ± 6,54	<b>7,86</b> ± 0,73
	<i>testimone + miscela 5</i>	<b>35,78</b> ± 2,99	<b>23,32</b> ± 4,99	<b>35,67</b> ± 3,18	<b>5,04</b> ± 0,39	<b>2,04</b> ± 0,51	<b>36,13</b> ± 6,49	<b>55,69</b> ± 5,88	<b>7,86</b> ± 0,73

## 5.1. STUDIO DELL'EVOLUZIONE DEI FENOMENI MATURATIVI DEL FORMAGGIO

Come già descritto, la maturazione proteolitica del formaggio comporta la progressiva degradazione delle caseine in diverse e più semplici forme azotate. In questa Fase del Progetto, l'evoluzione dei fenomeni proteolitici e il loro quadro nel formaggio a 200 giorni di stagionatura sono stati valutati attraverso gli stessi parametri analitici utilizzati per la i formaggi studiati nella Fase precedente del Progetto.

In generale, tra i formaggi studiati quelli prodotti dai caseifici C e H si differenziano chiaramente per livello di proteolisi a carico di  $\beta$ -CN. Negli stessi formaggi appare significativa anche la degradazione di  $\alpha_{s1}$ -CN e  $\alpha_{s0}$ -CN con formazione di  $\alpha_{s1}$ -I-CN e  $\alpha_{s0}$ -I-CN. Ovviamente la presenza di questi peptidi dopo 200 giorni di maturazione è il risultato di un bilancio tra accumulo per azione residua di plasmina e caglio e degradazione dei peptidi di neo formazione ad opera di proteasi batteriche. Nonostante ciò, la variabilità dell'intensità proteolitica (misurata mediante i rapporti di area  $\gamma$ -CN/ $\beta$ -CN,  $\alpha_{s1/0}$ -I-CN/ $\alpha_{s1/0}$ -CN) appare evidente tra i diversi caseifici. Meno importanti appaiono le differenze tra i formaggi testimone e le corrispondenti forme sperimentali (innesto 5) prodotti dallo stesso caseificio.

Ulteriori valutazioni sull'andamento della proteolisi nel formaggio SILTER a fine maturazione possono essere fatte sulla base dei livelli di N solubile (tabella 15).

In particolare, il livello di SN risulta mediamente pari al 25,01% prot. totali, valore comparabile con quello caratteristico di altri formaggi di montagna, come Fontina e Sbrinz. Il livello di SN-TCA si attesta mediamente al 13,70% prot. totali. Per i caseifici E, R, C e soprattutto D si osservano significative differenze tra il livelli di questi indici nei formaggi testimone rispetto a quelli prodotti con la miscela 5, risultando comparabili nei formaggi ottenuti presso i rimanenti caseifici. I valori di SN-TCA non presentano lo stesso andamento risultando più elevati per i caseifici H (entrambi i formaggi), R (formaggio miscela 5) e C (formaggio testimone). Sommando i valori di SN e SN-TCA, il 25-50% delle proteine totali risultano degradate a forma azotate semplici. Nel complesso, quindi, entrambi gli indici evidenziano un'importante maturazione proteolitica del formaggio SILTER che, tuttavia, risulta più accentuata per i formaggi prodotti nei caseifici C, H e R, come si evince dalla tabella 16 in cui sono riportati i livelli di amminoacidi liberi ritrovati negli stessi formaggi. Per i rimanenti caseifici, i livelli medi di SN e SN-TCA non differenziano le forme testimone da quelle sperimentali.

A 200 giorni di maturazione, il contenuto totale di amminoacidi liberi varia da 1,73 a 15,29% delle proteine totali per i formaggi prodotti con l'innesto selezionato, e da 1,12 a 21,94% per i formaggi tradizionali (tabella 16). A titolo di confronto, il contenuto totali di amminoacidi liberi del formaggio Fontina varia da 0,60 a 4,50% delle proteine totali I contenuti totali medi di amminoacidi liberi nei campioni di SILTER analizzati risultano  $4,50 \pm 3,94\%$  delle proteine totali per le forme prodotte con innesto autoctono e  $6,50 \pm 6,30\%$  per le forme testimone (tabella 16).

L'innesto selezionato sembra quindi determinare una minore liberazione di amminoacidi dalle catene peptidiche; in realtà vi sono quattro formaggi con contenuti totali di amminoacidi liberi che appaiono "anomali" se confrontati con gli altri campioni: i due formaggi della azienda H (miscela 5, 15,29%; testimone, 21,94%) e le forme testimone delle serie L (10,42%) e C (10,03%). Non considerando tali campioni, il contenuto totale di amminoacidi liberi risulta pari 3,42% delle proteine per i formaggi prodotti con innesto selezionato e 3,23% per quelli tradizionali. I dati rivelano comunque una grande variabilità nella velocità della proteolisi, anche non considerando i campioni "anomali".

**Tabella 15.** Livelli di SN e SN-TCA nel formaggio SILTER (200 giorni di stagionatura) testimone e sperimentale prodotto da diversi caseifici aderenti al Consorzio di Tutela. TN= azoto totale; SN= azoto solubile a pH 4,4; SN-TCA= azoto solubile in acido tricloroacetico. (nd: non determinato)..

		TN	SN	SN-TCA	SN	SN-TCA
		(g/100 g)			(g/100 g di prot. tot)	
<b>M</b>	testimone	33,85	7,60	3,78	22,45	11,16
	miscela 5	33,30	8,35	3,22	25,06	9,68
<b>D</b>	testimone	37,54	8,04	2,7	21,41	7,19
	miscela 5	37,31	19,04	4,54	51,03	12,18
<b>E</b>	testimone	37	8,1	4,66	21,9	12,6
	miscela 5	40,28	6,71	3,29	16,65	8,16
<b>H</b>	testimone	31,89	10,02	8,73	31,41	27,37
	miscela 5	32,1	9,84	7,61	30,67	23,71
<b>B</b>	testimone	32,23	6,83	4,11	21,18	12,75
	miscela 5	32,73	7,16	4,31	21,87	13,16
<b>R</b>	testimone	36,17	8,8	4,22	24,34	11,68
	miscela 5	40,68	12,7	9,28	31,21	22,82
<b>F</b>	testimone	33,58	8,19	3,82	24,38	11,36
	miscela 5	35,21	7,73	3,06	21,94	8,68
<b>G</b>	testimone	40,1	9,33	4,75	23,26	11,85
	miscela 5	41,15	7,96	3,83	19,35	9,3
<b>L</b>	testimone	36,31	6,66	5,26	18,34	14,49
	miscela 5	36,09	5,51	2,32	15,26	6,43
<b>C</b>	testimone	34,44	10,31	7,95	29,94	23,08
	miscela 5	37,14	9,05	3,96	24,37	10,67
<b>A</b>	testimone	nd	nd	nd	nd	nd
	miscela 5	29,91	8,75	5,8	29,26	19,4
<b>media ± ds</b>	testimone	<b>35,31</b> ± 2,57	<b>8,39</b> ± 1,23	<b>5,00</b> ± 1,9	<b>23,86</b> ± 4	<b>14,35</b> ± 6,1
	miscela 5	<b>35,99</b> ± 3,75	<b>9,34</b> ± 3,71	<b>4,66</b> ± 2,11	<b>26,06</b> ± 9,85	<b>13,11</b> ± 6,07
	testimone + miscela 5	<b>35,67</b> ± 3,18	<b>8,89</b> ± 2,8	<b>4,82</b> ± 1,97	<b>25,01</b> ± 7,55	<b>13,70</b> ± 5,96



**Tabella 16.** Livelli di amminoacidi liberi nel formaggio SILTER (200 giorni di stagionatura) testimone e sperimentale prodotto da diversi caseifici aderenti al Consorzio di Tutela. (nd: non determinato).

		Amminoacidi liberi	
		(g/100 g)	(g/100 g di prot tot)
<b>M</b>	<i>testimone</i>	0,80	2,37
	<i>miscela 5</i>	1,07	3,21
<b>D</b>	<i>testimone</i>	0,42	1,12
	<i>miscela 5</i>	1,63	4,37
<b>E</b>	<i>testimone</i>	1,45	3,91
	<i>miscela 5</i>	0,89	2,21
<b>H</b>	<i>testimone</i>	7,00	21,94
	<i>miscela 5</i>	4,91	15,29
<b>B</b>	<i>testimone</i>	2,05	6,37
	<i>miscela 5</i>	1,13	3,45
<b>R</b>	<i>testimone</i>	1,12	3,11
	<i>miscela 5</i>	3,10	7,62
<b>F</b>	<i>testimone</i>	0,86	2,57
	<i>miscela 5</i>	0,61	1,73
<b>G</b>	<i>testimone</i>	1,27	3,17
	<i>miscela 5</i>	1,03	2,50
<b>L</b>	<i>testimone</i>	3,78	10,42
	<i>miscela 5</i>	0,69	1,91
<b>C</b>	<i>testimone</i>	3,46	10,03
	<i>miscela 5</i>	1,02	2,75
<b>A</b>	<i>testimone</i>	nd	nd
	<i>miscela 5</i>	1,33	4,43
<b>media ± ds</b>	<i>testimone</i>	<b>2,22</b> ± 2,02	<b>6,50</b> ± 6,3
	<i>miscela 5</i>	<b>1,58</b> ± 1,29	<b>4,50</b> ± 3,94
	<i>testimone + miscela 5</i>	<b>1,89</b> ± 1,67	<b>5,45</b> ± 5,17

La variabilità osservata per il contenuto totali di amminoacidi liberi si riscontra anche per i singoli amminoacidi, se espressi sul contenuto totale di proteine. Il CV del contenuto medio supera il valore di 50 per tutti gli amminoacidi di ambedue le tesi. Il profilo in amminoacidi liberi appare invece più omogeneo se espresso in percentuali relative, cioè come percentuale degli amminoacidi liberi totali. In questo caso il CV del valore medio risulta inferiore a 25 per molti singoli amminoacidi, per ambedue le tesi. Le “modalità”, i meccanismi, con cui gli amminoacidi vengono liberati dalle caseine sono quindi meno variabili tra le diverse forme che non la velocità con cui tale fenomeno si svolge. L’impiego dell’innesto selezionato non sembra influire sulla proteolisi, né quantitativamente, né qualitativamente.

La determinazione di taluni acidi organici nei formaggi può fornire ulteriori informazioni riguardo l’andamento dei processi maturativi del formaggio. Il prodotto principale della fermentazione è l’acido lattico, presente nei formaggi analizzati in concentrazioni comprese nell’intervallo 0,54-3,10% (tabella 17).

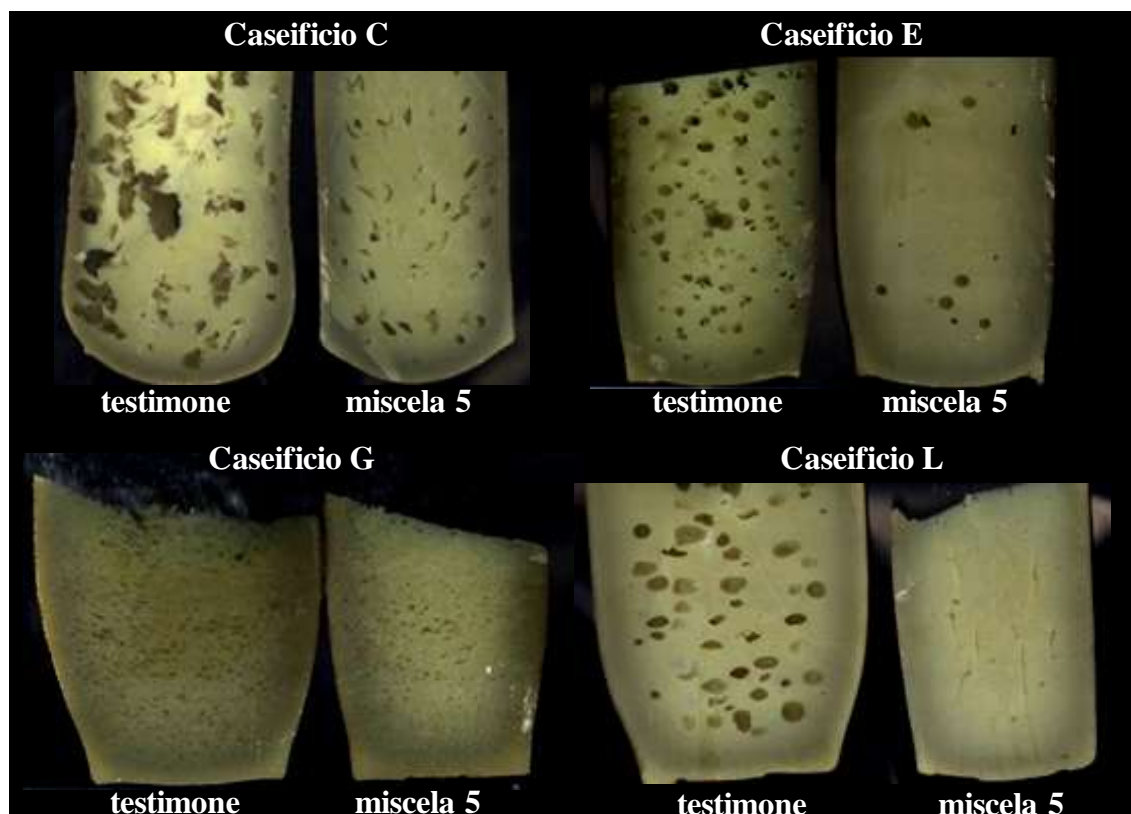
**Tabella 17.** Livelli di acido lattico e acido acetico nel formaggio SILTER (200 giorni di stagionatura) testimone e sperimentale prodotto da diversi caseifici aderenti al Consorzio di Tutela. (nd: non determinato).

		Acido lattico	Acido acetico
		(g/100 g)	
<b>M</b>	<i>testimone</i>	2,06	0,24
	<i>miscela 5</i>	1,99	0,25
<b>D</b>	<i>testimone</i>	2,90	0,13
	<i>miscela 5</i>	3,10	0,16
<b>E</b>	<i>testimone</i>	2,43	0,24
	<i>miscela 5</i>	2,29	0,08
<b>H</b>	<i>testimone</i>	1,97	0,13
	<i>miscela 5</i>	1,97	0,16
<b>B</b>	<i>testimone</i>	2,10	0,27
	<i>miscela 5</i>	2,23	0,14
<b>R</b>	<i>testimone</i>	1,76	0,13
	<i>miscela 5</i>	1,25	0,11
<b>F</b>	<i>testimone</i>	1,95	0,14
	<i>miscela 5</i>	1,82	0,14
<b>G</b>	<i>testimone</i>	2,04	0,20
	<i>miscela 5</i>	2,25	0,17
<b>L</b>	<i>testimone</i>	2,44	0,09
	<i>miscela 5</i>	2,15	0,14
<b>C</b>	<i>testimone</i>	0,54	0,52
	<i>miscela 5</i>	1,94	0,18
<b>A</b>	<i>testimone</i>	nd	nd
	<i>miscela 5</i>	1,74	0,16
<b>media ± ds</b>	<i>testimone</i>	<b>2,02</b> ± 0,61	<b>0,21</b> ± 0,12
	<i>miscela 5</i>	<b>2,07</b> ± 0,45	<b>0,15</b> ± 0,04
	<i>testimone + miscela 5</i>	<b>2,04</b> ± 0,52	<b>0,18</b> ± 0,09

In corrispondenza del valore più basso di acido lattico, nel campione C-testimone si riscontra il valore (0,52%) più elevato di acido acetico. L'acido acetico può derivare dal metabolismo del lattosio, del citrato e degli amminoacidi da parte dei batteri dello starter oppure dall'ossidazione del lattato da parte dei microrganismi non-starter, con la contemporanea produzione di acido formico. Parimenti, questo acido organico rappresenta uno dei principali prodotti finali della attività fermentativa di batteri Coliformi. Nel complesso i dati evidenziano una certa variabilità per contenuti di acido lattico e acetico, più importante tra i diversi produttori che non tra il formaggio testimone e il relativo formaggio prodotto con l'innesto autoctono.

In generale, l'utilizzo della miscela 5 ha consentito di controllare lo sviluppo di fermentazioni anomale (ad es. da coliformi o propionici). La presenza di acido propionico e butirrico risulta quasi sempre inferiore nei campioni sperimentali rispetto ai corrispondenti formaggi testimoni. Osservando la figura 10 si può facilmente intuire quale importanza tecnologica assuma lo

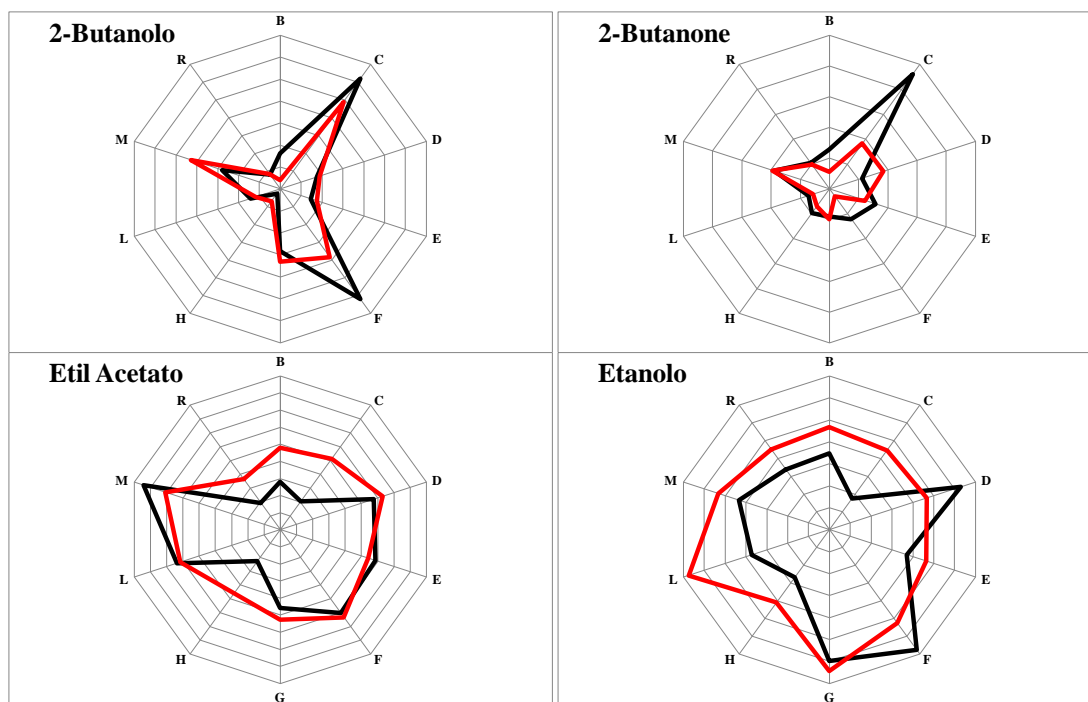
starter autoctono nel limitare la comparsa di fermentazioni anomale (ad es. da coliformi o propionici) garantendo nelle prime fasi della caseificazione una corretta acidificazione della cagliata.



**Figura 10.** Immagini del formaggio testimone e del corrispondente formaggio prodotto con l'innesco autoctono 5 presso i caseifici C, E, G e L.

Sono state studiate anche altre molecole associabili ad alcuni tratti sensoriali del formaggio. 2-Butanolo, 2-butanone, etilacetato ed etanolo rappresentano metaboliti secondari delle fermentazioni a carico di lattosio e citrato, e contribuiscono alle note fruttate ed eteree dei profili sensoriali dei formaggi di montagna a latte crudo. Il confronto tra i livelli medi di queste molecole nei formaggi studiati è visibile nella figura 11. Si può osservare come etanolo e etilacetato siano quasi sempre superiori nei formaggi sperimentali ottenuti con la miscela autoctona. Questo risultato è probabilmente ascrivibile all'attività dei batteri eterofermentanti apportati dall'innesco autoctono. Al contrario, 2-butanolo e di 2-butanone risultano generalmente superiori nei formaggi testimone, nonostante anche questi composti risultino correlati al metabolismo del citrato operato da batteri lattici eterofermentanti.

I dati microbiologici, riassunti in tabella 18 evidenziano un contenuto di cocchi lattici lievemente superiore nei formaggi ottenuti con impiego della miscela 5. L'analisi della varianza non ha evidenziato differenze significative, confermando che l'impiego di starter autoctoni non modifica in maniera sostanziale il microbiota del formaggio. Si conferma quindi, come evidenziato dai dati relativi ai fenomeni maturativi, che i batteri selezionati per la formulazione dell'innesco esercitano la loro influenza principalmente nella prima fase della caseificazione e non interferiscono con il successivo sviluppo dei bastoncini lattici che sono i principali responsabili dei processi enzimatici che avvengono nei formaggi a latte crudo con il protrarsi della stagionatura.



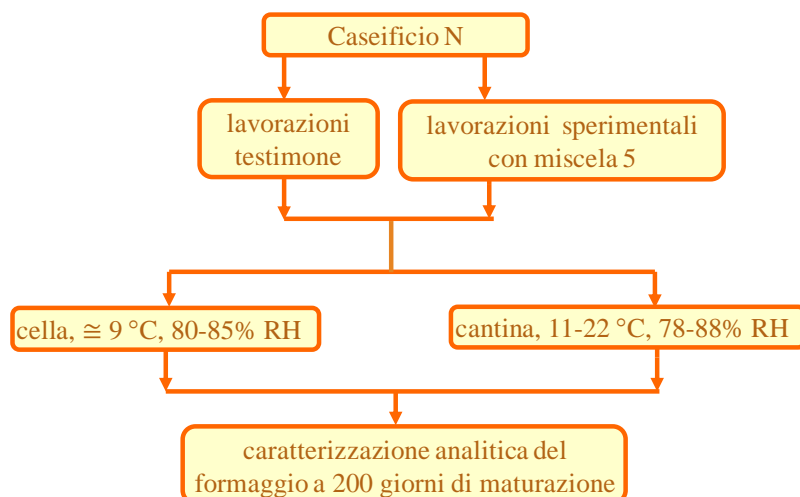
**Figura 11.** Confronto tra i livelli medi (unità arbitrarie) di 2-butanolo, 2-butanone, etil acetato ed etanolo ritrovati nel formaggio SILTER testimone (—) e sperimentale (—) prodotti dai diversi caseifici

**Tabella 18.** Contenuto di batteri lattici nel formaggio SILTER (200 giorni di stagionatura) testimone e sperimentale prodotto da diversi caseifici aderenti al Consorzio di Tutela. (nd: non determinato).

		Lattococchi	Lattobacilli	Leuconostoc spp.	Enterococchi
		(log 10 ufc/g)			
<b>M</b>	<i>testimone</i>	7,04	6,78	3,63	5,26
	<i>miscela 5</i>	6,40	5,48	3,23	4,54
<b>D</b>	<i>testimone</i>	7,41	6,60	1,95	5,56
	<i>miscela 5</i>	8,19	6,48	5,72	7,81
<b>E</b>	<i>testimone</i>	7,31	6,00	5,70	6,75
	<i>miscela 5</i>	6,96	5,78	1,95	5,78
<b>H</b>	<i>testimone</i>	6,40	5,48	1,95	3,00
	<i>miscela 5</i>	7,19	6,18	1,95	3,30
<b>B</b>	<i>testimone</i>	7,11	6,40	2,30	5,00
	<i>miscela 5</i>	6,77	6,30	2,78	4,26
<b>R</b>	<i>testimone</i>	7,37	6,32	1,95	6,34
	<i>miscela 5</i>	7,20	7,08	1,95	6,03
<b>F</b>	<i>testimone</i>	6,08	6,00	1,95	4,38
	<i>miscela 5</i>	6,32	6,08	2,00	4,53
<b>G</b>	<i>testimone</i>	6,72	6,20	1,95	5,82
	<i>miscela 5</i>	7,97	6,04	1,95	6,18
<b>L</b>	<i>testimone</i>	7,21	6,08	1,95	5,13
	<i>miscela 5</i>	7,15	6,15	1,95	5,77
<b>C</b>	<i>testimone</i>	7,11	5,95	1,95	6,75
	<i>miscela 5</i>	6,30	5,90	2,78	5,44
<b>A</b>	<i>testimone</i>	nd	nd	nd	nd
	<i>miscela 5</i>	7,40	6,32	1,95	6,32
<b>media ± ds</b>	<i>testimone</i>	<b>6,97</b> ± 0,44	<b>6,18</b> ± 0,37	<b>2,53</b> ± 1,23	<b>5,40</b> ± 1,14
	<i>miscela 5</i>	<b>7,08</b> ± 0,62	<b>6,16</b> ± 0,41	<b>2,56</b> ± 1,14	<b>5,45</b> ± 1,23
	<i>testimone + miscela 5</i>	<b>7,03</b> ± 0,53	<b>6,17</b> ± 0,38	<b>2,55</b> ± 1,16	<b>5,43</b> ± 1,16

## 6. FASE IV – Effetto del tipo di stagionatura sulle caratteristiche del formaggio

In questa Fase del Progetto si è cercato di valutare l'effetto delle condizioni di stagionatura sull'andamento del processo maturativo e, quindi, sulle caratteristiche finali del Silter. A tale scopo è stato adottato il seguente piano sperimentale:



Più nel dettaglio, i formaggi (quattro testimoni con impiego di lattoinnesto naturale e quattro sperimentali ottenuti con la miscela 5) prodotti presso il caseificio N durante due lavorazioni sono stati conservati in cella refrigerata ovvero in una cantina abitualmente utilizzata per la stagionatura del Silter dallo stesso caseificio. In generale, e questo vale anche per il Silter, i formaggi di montagna vengono stagionati in locali senza un diretto controllo di umidità e temperatura. La relativa costanza di questi parametri è in parte assicurata dalle caratteristiche costruttive delle cantine di stagionatura (orientamento, ventilazione, tipo di muri, presenza di acqua corrente). Queste caratteristiche, tuttavia, non possono garantire temperatura e umidità costanti così come avviene nelle celle. Per questa ragione, la stagionatura in alpeggio e/o in fondovalle è un periodo estremamente importante per i processi maturativi del formaggio e per lo sviluppo delle sue caratteristiche sensoriali.

Durante queste prove sono state quindi monitorate le condizioni termo igrometriche dei due ambienti di maturazione in cui sono stati posti i formaggi. In particolare, la temperatura della cella è stata mantenuta al valore più basso previsto dal Disciplinare, mentre la temperatura della cantina si è naturalmente mantenuta nell'intervallo (9-20 °C) ammesso dallo stesso Disciplinare.

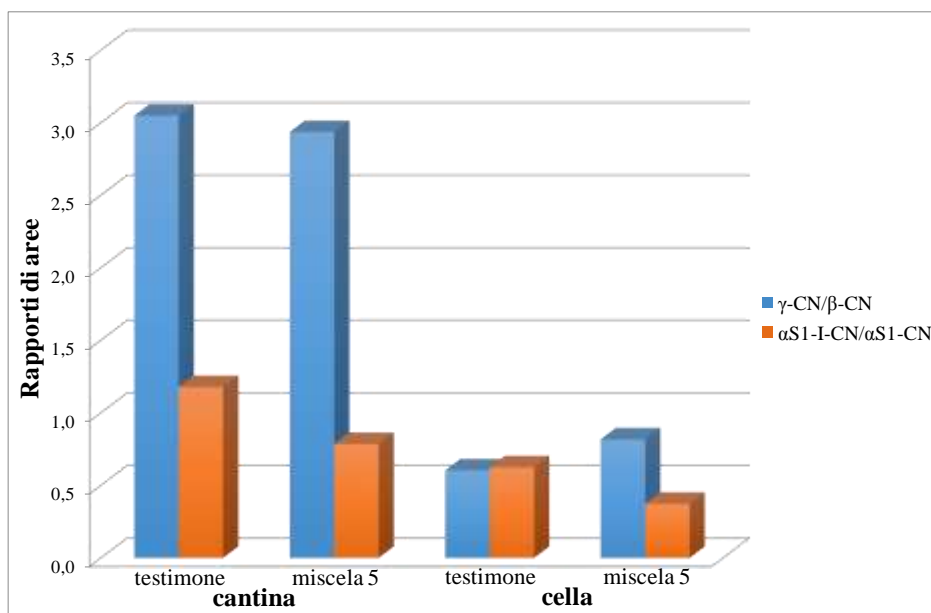
Le principali caratteristiche compositive dei formaggi rientrano nei valori di riferimento previsti dal Disciplinare (tabella 19).



**Tabella 19.** Composizione del formaggio SILTER testimone e sperimentale dopo 200 giorni di stagionatura in cella o cantina. Dati medi  $\pm$  deviazione standard (SS: sostanza secca).

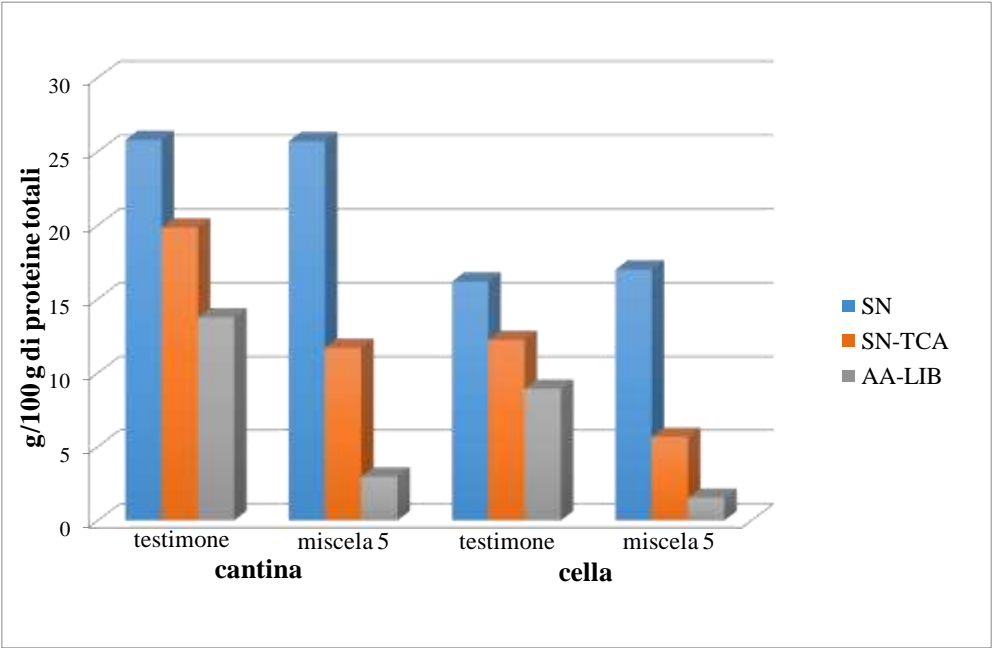
		Umidità	Grasso	Proteine	Ceneri	NaCl	Grasso Proteine Ceneri (g/100 g SS)		
cantina	testimone	34,72 $\pm 1,34$	21,63 $\pm 5,03$	38,09 $\pm 4,35$	4,89 $\pm 0,33$	1,76 $\pm 0,11$	33,06 $\pm 7,03$	58,42 $\pm 7,86$	7,50 $\pm 0,65$
	miscela 5	34,79 $\pm 1,68$	21,58 $\pm 3,27$	37,90 $\pm 1,41$	5,51 $\pm 0,01$	2,30 $\pm 0,04$	33,03 $\pm 4,17$	58,16 $\pm 3,66$	8,45 $\pm 0,24$
cella	testimone	32,78 $\pm 1,58$	24,03 $\pm 8,27$	38,00 $\pm 6,98$	4,92 $\pm 0,41$	2,13 $\pm 0,04$	35,61 $\pm 11,47$	56,66 $\pm 11,71$	7,33 $\pm 0,78$
	miscela 5	32,31 $\pm 1,65$	24,53 $\pm 1,49$	37,37 $\pm 0,31$	5,43 $\pm 0,16$	2,45 $\pm 0,40$	36,49 $\pm 1,71$	55,63 $\pm 1,24$	8,08 $\pm 0,11$
testimone + miscela 5	cantina	34,76 $\pm 1,24$	21,60 $\pm 3,47$	37,99 $\pm 2,64$	5,20 $\pm 0,4$	2,03 $\pm 0,32$	33,05 $\pm 4,72$	58,29 $\pm 5,01$	7,98 $\pm 0,68$
	cella	32,54 $\pm 1,34$	24,28 $\pm 4,86$	37,68 $\pm 4,05$	5,18 $\pm 0,39$	2,29 $\pm 0,3$	36,05 $\pm 6,71$	56,14 $\pm 6,82$	7,70 $\pm 0,63$
	cantina + cella	33,65 $\pm 1,69$	22,94 $\pm 4,16$	37,84 $\pm 3,17$	5,19 $\pm 0,37$	2,16 $\pm 0,32$	34,55 $\pm 5,61$	57,22 $\pm 5,66$	7,84 $\pm 0,62$

L'effetto della temperatura di stagionatura si evidenzia sullo sviluppo dei microrganismi del formaggio e sull'intensità delle attività enzimatiche che avvengono in esso. Questo effetto risulta particolarmente importante sulla proteolisi, anche nativa endogena al latte determinata dalla plasmina. Come evidenziato nella figura 12, questa attività risulta significativa solo nei formaggi conservati in cantina, nei quali maggior risulta il contenuto di peptidi derivati dalla lisi delle caseine ad opera dell'azione residua del caglio e della plasmina.



**Figura 12.** Indice di stagionatura (rapporti tra aree di prodotti di neoformazione e rispettive frazioni di origine) legato alla attività residua della plasmina (■) e del caglio (■) nel formaggio SILTER (200 giorni di stagionatura) testimone e sperimentale conservati in cella o in cantina.

Analoghe osservazioni possono essere tratte per gli altri indici di proteolisi precedentemente studiati (SN, SN-TCA e amminoacidi liberi) che risultano significativamente più bassi nei formaggi conservati in cella (figura 13 e tabella 20).



**Figura 13.** Livelli di SN, SN-TCA e amminoacidi liberi (AA-LIB) nel formaggio SILTER (200 giorni di stagionatura) conservati in cella o in cantina. SN= azoto solubile a pH 4,4; SN-TCA= azoto solubile in acido tricloroacetico.

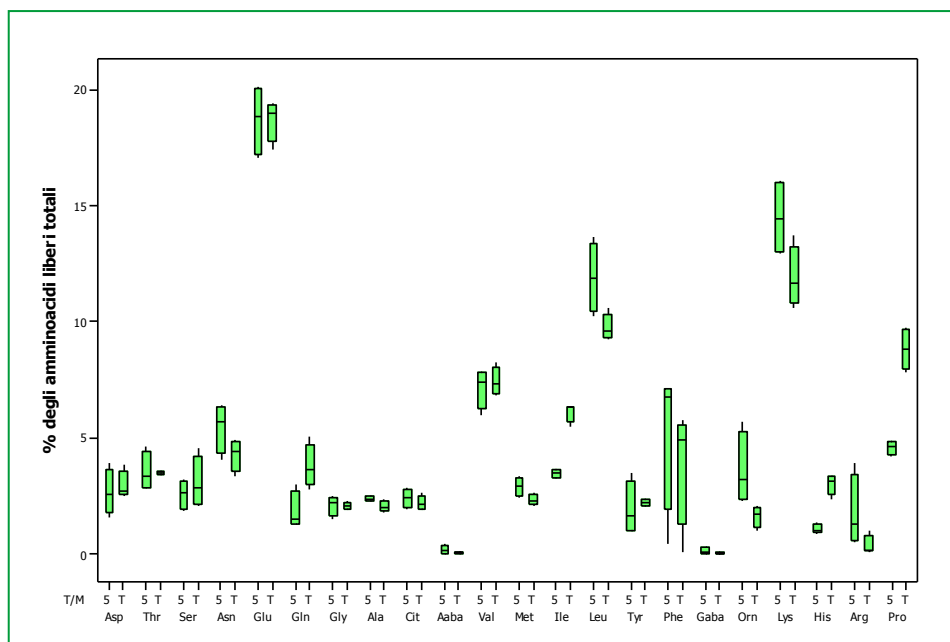
50

Nel caso del confronto tra formaggi testimoni e sperimentali, questa differenza viene ulteriormente accentuata dalla minore attività proteolitica esercitata dai batteri autoctoni dell’innesto 5 durante la maturazione in cantina (tabella 20).

**Tabella 20.** Livelli medi  $\pm$  deviazione standard di SN, SN-TCA e amminoacidi liberi nel formaggio SILTER (200 giorni di stagionatura) testimone e sperimentale conservati in cella o in cantina. TN= azoto totale; SN= azoto solubile a pH 4,4; SN-TCA= azoto solubile in acido tricloroacetico; AAL= amminoacidi liberi.

		TN	SN	SN-TCA	AAL	SN	SN-TCA	AAL
		(g/100 g)				(g/100 g di prot. tot)		
cantina	testimone	38,09 $\pm$ 4,35	9,87 $\pm$ 2,12	7,51 $\pm$ 0,14	5,14 $\pm$ 1,11	25,77 $\pm$ 2,63	19,83 $\pm$ 1,91	13,75 $\pm$ 4,49
	miscela 5	37,90 $\pm$ 1,41	9,74 $\pm$ 0,65	4,44 $\pm$ 0,67	1,12 $\pm$ 0,29	25,68 $\pm$ 0,76	11,68 $\pm$ 1,34	2,95 $\pm$ 0,65
cella	testimone	38,00 $\pm$ 6,98	6,05 $\pm$ 0,10	4,50 $\pm$ 0,66	3,28 $\pm$ 0,52	16,17 $\pm$ 2,70	12,22 $\pm$ 3,98	8,91 $\pm$ 3,01
	miscela 5	37,37 $\pm$ 0,31	6,35 $\pm$ 0,99	2,11 $\pm$ 0,01	0,57 $\pm$ 0,16	16,99 $\pm$ 2,50	5,65 $\pm$ 0,02	1,52 $\pm$ 0,44
testimone + miscela 5	cantina	37,99 $\pm$ 2,64	9,80 $\pm$ 1,28	5,97 $\pm$ 1,82	3,13 $\pm$ 2,41	25,72 $\pm$ 1,58	15,76 $\pm$ 4,89	8,35 $\pm$ 6,76
	cella	37,68 $\pm$ 4,05	6,20 $\pm$ 0,6	3,31 $\pm$ 1,43	1,92 $\pm$ 1,6	16,58 $\pm$ 2,18	8,94 $\pm$ 4,43	5,21 $\pm$ 4,61
	cantina+cella	37,84 $\pm$ 3,17	8,00 $\pm$ 2,14	4,64 $\pm$ 2,08	2,53 $\pm$ 2	21,15 $\pm$ 5,19	12,35 $\pm$ 5,65	6,78 $\pm$ 5,61

Relativamente al parametro amminoacidi liberi, le differenze riguardano il livello totale mentre la proporzione quantitativa tra gli stessi non appare significativamente diversa tra i campioni testimone e quelli sperimentali (figura 14). Ciò dimostra che i processi di maturazione, perlomeno quelli proteolitici, sono gli stessi nelle due tesi e gli stessi fenomeni sono regolati dall'effetto della temperatura di stagionatura sui microrganismi non-starter del formaggio.



**Figura 14.** Livelli (% amminoacidi liberi totali) di amminoacidi liberi nel formaggio SILTER testimone (T) e sperimentale (5).

I livelli (1,81-2,35%) di acido lattico risultano sovrapponibili a quelli dei formaggi analizzati durante la Fase III, mentre quelli (0,00-0,14%) di acido acetico sono risultati generalmente più bassi.

I livelli dei composti volatili, correlabili a specifici tratti sensoriali, sviluppati durante la maturazione del formaggio nelle diverse condizioni di stagionatura non mostrano importanti differenze tra le lavorazioni tradizionali e quelle con starter autoctono conservate nello stesso ambiente di stagionatura. Al contrario, i formaggi conservati in cella evidenziano un minor contenuto di etanolo e di etilacetato.

La valutazione del profilo microbico non evidenzia differenze significative ( $p < 0,05$ ) nel formaggio SILTER in funzione dell'ambiente di stagionatura (tabella 21). Emergono, invece, differenze statisticamente rilevanti ( $p < 0,0001$ ) in relazione al tipo di innesto impiegato per quanto riguarda il contenuto di batteri appartenenti al genere *Leuconostoc* che risulta sempre al di sotto del limite di rilevanza (100 ufc/g) nei campioni testimone. Il genere *Leuconostoc*, grazie alla produzione di composti aromatici (acetaldeide, acetoino e diacetile) e ad alcune caratteristiche tecnologiche (sintesi di destrani da saccarosio, attività proteolitica, lipolica ed amino-peptidasica e produzione di  $CO_2$ ), gioca un ruolo fondamentale nella definizione delle caratteristiche sensoriali e strutturali dei formaggi a latte crudo. I valori medi di tutti gli altri gruppi di batteri lattici risultano superiori nel formaggio ottenuto con la miscela 5, seppure in maniera non significativa.

**Tabella 21.** Contenuto di batteri lattici nel formaggio SILTER testimone e sperimentale dopo 200 giorni di stagionatura in cella o cantina. Dati medi  $\pm$  deviazione standard.

		Lattococchi	Lattobacilli	Leuconostoc spp.	Enterococchi
		(log 10 ufc/g)			
<b>cantina</b>	<i>testimone</i>	<b>6,51</b> $\pm 0,00$	<b>6,38</b> $\pm 0,11$	<b>&lt;2</b> $\pm 0,00$	<b>3,35</b> $\pm 0,49$
	<i>miscela 5</i>	<b>7,18</b> $\pm 0,28$	<b>6,50</b> $\pm 0,71$	<b>3,76</b> $\pm 0,21$	<b>4,37</b> $\pm 0,47$
<b>cella</b>	<i>testimone</i>	<b>6,98</b> $\pm 0,31$	<b>6,10</b> $\pm 0,02$	<b>&lt;2</b> $\pm 0,00$	<b>4,31</b> $\pm 0,65$
	<i>miscela 5</i>	<b>6,87</b> $\pm 0,39$	<b>6,57</b> $\pm 0,06$	<b>4,52</b> $\pm 0,25$	<b>4,03</b> $\pm 0,30$
<b>testimone + miscela 5</b>	<i>cantina</i>	<b>6,84</b> $\pm 0,42$	<b>6,44</b> $\pm 0,42$	<b>2,86</b> $\pm 1,05$	<b>3,86</b> $\pm 0,71$
	<i>cella</i>	<b>6,92</b> $\pm 0,30$	<b>6,33</b> $\pm 0,27$	<b>3,24</b> $\pm 1,49$	<b>4,16</b> $\pm 0,45$
	<i>cantina+cella</i>	<b>6,88</b> $\pm 0,34$	<b>6,38</b> $\pm 0,33$	<b>3,05</b> $\pm 1,21$	<b>4,01</b> $\pm 0,57$
<b>cantina + cella</b>	<i>testimone</i>	<b>6,74</b> $\pm 0,33$	<b>6,24</b> $\pm 0,17$	<b>&lt;2</b> $\pm 0,00$	<b>3,83</b> $\pm 0,73$
	<i>miscela 5</i>	<b>7,02</b> $\pm 0,33$	<b>6,53</b> $\pm 0,41$	<b>4,14</b> $\pm 0,48$	<b>4,20</b> $\pm 0,38$

## 7. FASE V – Sperimentazione della miscela 5 in alpeggio

In questa Fase la miscela di batteri autoctoni 5 è stata utilizzata per prove di caseificazione in alpeggio secondo il seguente piano sperimentale:

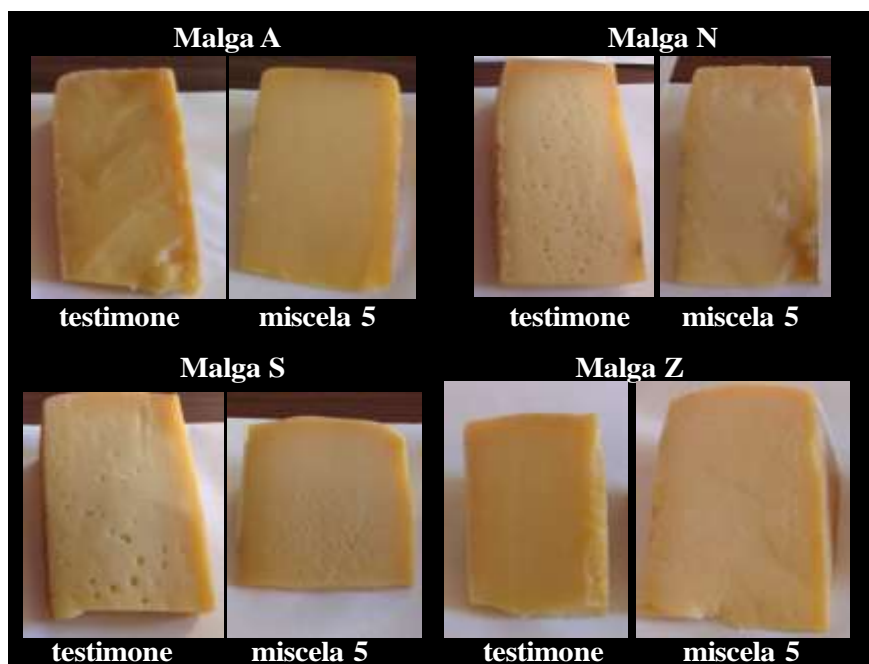


Le quattro malghe aderenti al Consorzio sono situate tra 1600 e 2000 metri s.l.m.. I formaggi testimone e sperimentali, prodotti nel periodo luglio-agosto sono stati stagionati secondo le modalità proprie di ogni azienda. Nel caso delle malghe A e N, dopo un periodo di stagionatura in malga i formaggi sono stati portati in cantine rispettivamente di media e fondovalle. Le malghe Z e S conservano i formaggi in cantine rispettivamente a 1000 e 1500 m s.l.m.. Le malghe A, N e Z utilizzano lattoinnesti naturali, la malga S non utilizza alcun innesto.

L'aspetto dei formaggi e le loro principali caratteristiche chimiche sono riportate in tabella 22 e nella figura 15, rispettivamente. La composizione per grasso e umidità rientra nei parametri previsti dal Disciplinare di produzione.

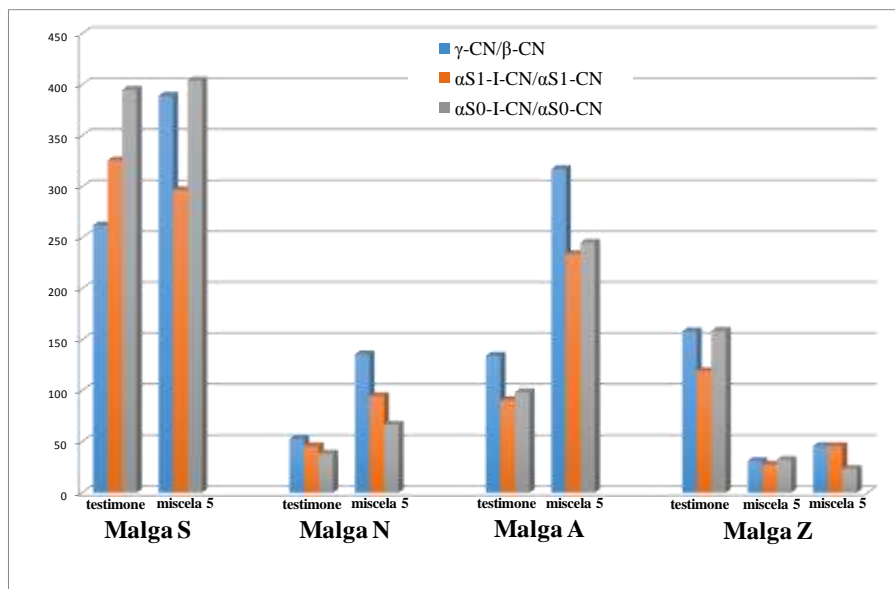
**Tabella 22.** Composizione del formaggio SILTER testimone e sperimentale prodotto nelle malghe A, N, S e Z aderenti al Consorzio di Tutela. (SS: sostanza secca, ds: deviazione standard).

		Umidità	Grasso	Proteine (g/100 g)	Ceneri	NaCl	Grasso	Proteine (g/100 g SS)	Ceneri
<b>S</b>	<i>testimone</i>	34,87	25,12	33,38	5,48	2,45	38,57	51,25	8,41
	<i>miscela 5</i>	40,79	20,18	33,64	5,32	2,72	34,08	56,81	8,98
<b>N</b>	<i>testimone</i>	38,50	16,83	38,76	5,41	2,49	27,37	63,02	8,80
	<i>miscela 5</i>	40,03	20,48	33,90	5,27	2,52	34,15	56,53	8,79
<b>A</b>	<i>testimone</i>	33,76	27,96	32,39	5,15	2,52	42,21	48,90	7,77
	<i>miscela 5</i>	34,14	25,23	35,42	4,18	1,25	38,31	53,78	6,35
<b>Z</b>	<i>testimone</i>	33,90	27,19	33,00	5,18	2,15	41,13	49,92	7,84
	<i>miscela 5</i>	36,34	23,48	35,10	4,58	1,55	36,88	55,14	7,19
	<i>miscela 5</i>	36,79	22,38	35,01	5,37	2,45	35,41	55,39	8,50
<b>media ± ds</b>	<i>testimone</i>	<b>35,69</b> ± 1,85	<b>23,83</b> ± 4,03	<b>34,61</b> ± 2,31	<b>5,20</b> ± 0,33	<b>2,27</b> ± 0,38	<b>36,93</b> ± 5,33	<b>53,94</b> ± 5,19	<b>8,09</b> ± 0,59
	<i>miscela 5</i>	<b>37,62</b> ± 2,75	<b>22,35</b> ± 2,11	<b>34,61</b> ± 0,79	<b>4,94</b> ± 0,54	<b>2,10</b> ± 0,65	<b>35,77</b> ± 1,82	<b>55,53</b> ± 1,21	<b>7,94</b> ± 1,02
	<i>testimone + miscela 5</i>	<b>36,57</b> ± 2,68	<b>23,21</b> ± 3,61	<b>34,51</b> ± 1,89	<b>5,10</b> ± 0,44	<b>2,23</b> ± 0,50	<b>36,46</b> ± 4,44	<b>54,53</b> ± 4,28	<b>8,07</b> ± 0,87



**Figura 15.** Immagini dei formaggi testimone e dei formaggi sperimentali prodotti presso le malghe A, N, S e Z.

Il grado di plasminolisi è più forte nei campioni, testimone e sperimentale, prodotti nella malga S ovvero più basso per i formaggi sperimentali della malga Z (figura 16). In generale, la plasminolisi differenzia le malghe piuttosto che i formaggi prodotti nello stesso alpeggio. Analoghe osservazioni possono essere tratte per l'attività litica residua del caglio a carico delle caseine.



**Figura 16.** Indice di stagionatura (rapporti tra aree di prodotti di neoformazione e rispettive frazioni di origine) legato alla attività residua della plasmina (■) e del caglio (■ e ■) nel formaggio SILTER (200 giorni di stagionatura) testimone e sperimentale prodotti in malga.

Gli indici medi di SN, SN-TCA e amminoacidi liberi evidenziano una degradazione delle caseine confrontabile con quella rilevato nella Fase III per gli undici caseifici controllati. Infatti, i valori medi per i tre parametri risultano rispettivamente pari a 20,13, 12,41 e 6,56 g/100 g proteine totali (tabella 23). Più interessante appare il confronto dei dati medi ottenuti per i formaggi



testimone o prodotti con l'utilizzo della miscela 5 che, rispetto a quanto rilevato nella Fase III, appaiono molto omogenei. Nel caso del caseificio N, gli indici risultano mediamente sovrapponibili a quelli caratterizzanti i formaggi dello stesso caseificio mantenuti in cella. La bassa temperatura della cantina in alpeggio, almeno nelle prima fasi di maturazione, possono avere determinato questo livello di proteolisi.

**Tabella 23.** Livelli di SN, SN-TCA e amminoacidi liberi nel formaggio SILTER (200 giorni di stagionatura) testimone e sperimentale prodotto nelle malghe A, N, S e Z. TN= azoto totale; SN= azoto solubile a pH 4,4; SN-TCA= azoto solubile in acido tricloroacetico; AAL= amminoacidi liberi..

		TN	SN	SN-TCA	AAL	SN	SN-TCA	AAL
		(g/100 g)				(g/100 g di prof. tot)		
<b>S</b>	testimone	33,38	6,82	4,20	1,31	20,43	12,60	3,92
	miscela 5	33,64	7,78	4,69	1,89	23,12	13,94	5,61
<b>N</b>	testimone	38,76	5,72	3,92	2,57	14,75	10,11	6,64
	miscela 5	33,90	5,40	2,81	1,18	15,92	8,30	3,47
<b>A</b>	testimone	32,39	7,40	3,05	0,69	22,85	9,42	2,13
	miscela 5	35,42	10,27	4,71	1,46	28,98	13,29	4,13
<b>Z</b>	testimone	33,00	7,43	5,97	4,29	22,50	18,08	12,99
	miscela 5	35,10	5,38	4,22	3,40	15,34	12,01	9,70
	miscela 5	35,01	6,04	4,89	3,64	17,26	13,96	10,41
<b>media ± ds</b>	testimone	<b>34,38</b> ± 2,95	<b>6,84</b> ± 0,80	<b>4,28</b> ± 1,22	<b>2,21</b> ± 1,59	<b>20,13</b> ± 3,75	<b>12,55</b> ± 3,93	<b>6,42</b> ± 4,76
	miscela 5	<b>34,61</b> ± 0,79	<b>6,97</b> ± 2,08	<b>4,26</b> ± 0,85	<b>2,31</b> ± 1,14	<b>20,12</b> ± 5,83	<b>12,30</b> ± 2,37	<b>6,66</b> ± 3,20
	testimone + miscela 5	<b>34,51</b> ± 1,89	<b>6,91</b> ± 1,55	<b>4,27</b> ± 0,96	<b>2,27</b> ± 1,26	<b>20,13</b> ± 4,72	<b>12,41</b> ± 2,94	<b>6,56</b> ± 3,69

Analogamente, il profilo quali-quantitativo dei singoli amminoacidi risulta confrontabile tra i formaggi sperimentali e quelli ottenuti con l'utilizzo della miscela 5 (tabella 24). Anche questi risultati evidenziano come il processo maturativo proteolitico non sia influenzato dalla presenza dell'innesto autoctono che, sviluppandosi prevalentemente nella cagliata dove garantiscono una corretta acidificazione, si riducono nelle successive fasi di maturazione lasciando spazio all'attività proteolitica della microflora non starter del latte.

**Tabella 24.** Livelli medi dei singoli amminoacidi liberi nel formaggio SILTER (200 giorni di stagionatura) testimone e sperimentale prodotto nelle malghe A, N, S e Z.

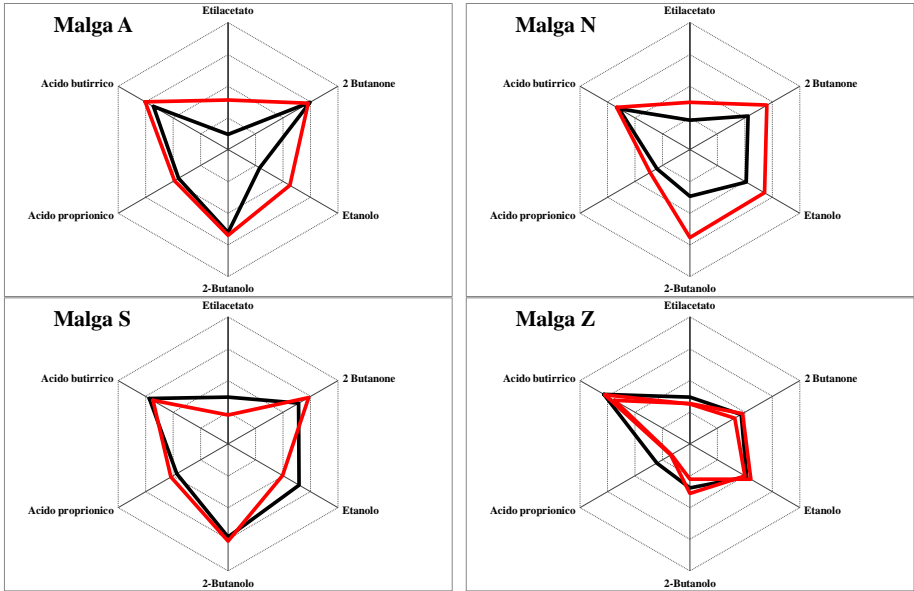
	Asp	Thr	Ser	Asn	Glu	Gln	Gly	Ala	Cit	Aaba	Val	Met	Ile	Leu	Tyr	Phe	Gaba	Orn	Lys	His	Arg	Pro
testimone	4,9 ± 2,26	2,97 ± 0,53	1,22 ± 0,82	2,76 ± 1,25	17,8 ± 3,98	1,68 ± 0,95	2,21 ± 0,28	2,6 ± 0,42	0,86 ± 0,66	0,15 ± 0,15	7,9 ± 0,93	2,42 ± 0,44	4,39 ± 1,48	13,4 ± 3,13	1,33 ± 0,74	7,16 ± 1,83	2,26 ± 2,60	4,03 ± 2,35	12,2 ± 1,74	0,85 ± 0,66	0,07 ± 0,13	6,85 ± 2,28
miscela 5	4,69 ± 2,95	2,94 ± 0,62	1,16 ± 0,78	3,08 ± 1,77	17,7 ± 2,78	1,49 ± 0,82	2,13 ± 0,22	2,7 ± 0,56	0,92 ± 0,53	0,19 ± 0,12	7,81 ± 0,79	2,84 ± 0,59	3,87 ± 0,77	14,1 ± 2,65	1,5 ± 0,91	7,4 ± 1,49	2,76 ± 2,31	4,42 ± 2,79	12,7 ± 2,60	0,89 ± 0,67	0,06 ± 0,10	4,7 ± 2,07
testimone + miscela 5	4,79 ± 2,58	2,96 ± 0,56	1,19 ± 0,78	2,93 ± 1,52	17,7 ± 3,32	1,58 ± 0,87	2,17 ± 0,25	2,65 ± 0,49	0,89 ± 0,58	0,17 ± 0,14	7,85 ± 0,84	2,64 ± 0,55	4,11 ± 1,16	13,8 ± 2,84	1,42 ± 0,82	7,28 ± 1,62	2,52 ± 2,40	4,24 ± 2,53	12,4 ± 2,19	0,87 ± 0,65	0,06 ± 0,11	5,72 ± 2,39

I livelli di acido lattico e acetico appaiono anch’essi omogenei tra le due tesi testate e non dissimili da quelli ritrovati nei formaggi ottenuti nella Fase III (tabella 25).

**Tabella 25.** Livelli di acido lattico e acido acetico nel formaggio SILTER (200 giorni di stagionatura) testimone e sperimentale prodotto dalle diverse malghe.

		Acido lattico	Acido acetico
		(g/100 g)	
<b>S</b>	<i>testimone</i>	2,04	0,18
	<i>miscela 5</i>	1,86	0,16
<b>N</b>	<i>testimone</i>	2,10	0,03
	<i>miscela 5</i>	1,71	0,13
<b>A</b>	<i>testimone</i>	1,31	0,07
	<i>miscela 5</i>	1,49	0,23
<b>Z</b>	<i>testimone</i>	2,22	0,18
	<i>miscela 5</i>	2,23	0,11
	<i>miscela 5</i>	2,30	0,20
<b>media ± ds</b>	<i>testimone</i>	<b>1,92</b> ± 0,41	<b>0,12</b> ± 0,08
	<i>miscela 5</i>	<b>1,92</b> ± 0,35	<b>0,17</b> ± 0,05
	<i>testimone + miscela 5</i>	<b>1,92</b> ± 0,35	<b>0,14</b> ± 0,06

L’analisi della frazione volatile mostra come, anche nelle lavorazioni in malga, l’uso di miscele autoctone determini un profilo sostanzialmente sovrapponibile tra formaggio sperimentale e il rispettivo campione testimone, con l’unica eccezione dei formaggi della malga N (figura 17). Il confronto tra malghe evidenzia una certa similitudine tra i profili dei formaggi prodotti nelle malghe A e S, a loro volta chiaramente diversi da quelli caratterizzanti i formaggi delle malghe N e Z.



**Figura 17.** Confronto tra i livelli medi (unità arbitrarie) di alcuni VOC ritrovati nel formaggio SILTER testimone (—) e sperimentale (—) prodotti dalle diverse malghe.

I valori medi della popolazione lattica nelle sue diverse componenti non differiscono in maniera significativa ( $p < 0,05$ ) in funzione dell’innesto utilizzato (tabella 26). Considerazioni

opposte emergono dal confronto tra i campioni in funzione della malga di provenienza; gli enterococchi, che conferiscono al prodotto finito caratteristiche sensoriali peculiari, risultano molto variabili tra le quattro malghe ( $p=0,043$ ) e rappresentano il parametro microbiologico discriminante. I valori più contenuti di enterococchi si sono registrati nei campioni provenienti dalla malga Z, mentre i formaggi della malga S presentano i livelli superiori.

Valutando globalmente i risultati ottenuti per il caseificio N nella fasi IV e V, tutti gli indici microbiologici risultano più elevati nei prodotti di alpeggio, specialmente gli enterococchi superiori di oltre un ciclo logaritmico (tabella 26).

**Tabella 26.** Contenuto di batteri lattici nel formaggio SILTER (200 giorni di stagionatura) testimone e sperimentale prodotto nelle malghe A, N, S e Z..

		Lattococchi	Lattobacilli	Leuconostoc spp.	Enterococchi
		(log 10 ufc/g)			
<b>S</b>	testimone	6,81	6,85	2,00	6,08
	miscela 5	7,40	6,85	1,95	7,16
<b>N</b>	testimone	7,35	7,04	1,95	4,99
	miscela 5	7,48	7,30	4,68	5,61
<b>A</b>	testimone	7,07	6,85	2,30	5,72
	miscela 5	6,97	5,95	1,95	5,98
<b>Z</b>	testimone	7,24	6,28	1,95	4,11
	miscela 5	7,79	5,95	4,40	3,62
	miscela 5	7,48	6,20	1,95	3,95
<b>media ± ds</b>	testimone	<b>7,12</b> ± 0,23	<b>6,75</b> ± 0,33	<b>2,05</b> ± 0,17	<b>5,23</b> ± 0,87
	miscela 5	<b>7,42</b> ± 0,29	<b>6,45</b> ± 0,60	<b>2,99</b> ± 1,42	<b>5,27</b> ± 1,47
	testimone + miscela 5	<b>7,29</b> ± 0,30	<b>6,58</b> ± 0,50	<b>2,57</b> ± 1,13	<b>5,25</b> ± 1,17

## 8. Analisi costi-benefici

L'analisi costi-benefici è stata svolta all'interno del progetto nel corso del 2013. Sono stati inizialmente raccolti i dati sulle vacche presenti in allevamento, prestando particolare attenzione alla razza (tabella 27). Nelle aziende indagate sono mediamente presenti 31 capi, in prevalenza (79,5%) vacche di razza bruna. Le vacche in lattazione variano tra 4 e 72, valori che evidenziano come il formaggio SILTER venga prodotto in aziende con dimensioni da medie a molto piccole.

**Tabella 27.** Numero di vacche presenti nelle aziende produttrici di SILTER e quantità di innesto autoctono utilizzato in caseificazione presso le stesse aziende.

Azienda	vacche in lattazione	vacche di razza Bruna		Innesto autoctono
	N°	N°	(%)	(N° dosi utilizzate)
1	19	18	94,7	0
2	20	15	75,0	30
3	15	10	66,7	20
4	39	20	51,3	150
5	23	23	100,0	20
6	10	5	50,0	130
7	4	4	100,0	50
8	40	29	72,5	370
9	24	16	66,7	0
10	68	61	89,7	200
11	72	50	69,4	0
12	22	21	95,5	100
13	25	21	84,0	0
14	38	22	57,9	30
15	40	30	75,0	0
16	45	43	95,6	10
17	62	49	79,0	100
18	15	7	46,7	150
19	20	20	100,0	100
20	27	27	100,0	120
21	20	20	100,0	0
<b>Totale</b>	<b>648</b>	<b>511</b>		<b>1580</b>
<b>Max</b>	72	61	100,0	370
<b>Min</b>	4	4	46,7	10
<b>Media</b>	30,9	24,3	79,5	90

Sono stati in seguito rilevati i costi di trasformazione, tra i quali il lavoro è risultato il fattore più oneroso (in media 72,3% del costo totale di trasformazione) (tabella 28). Le quote rappresentano la seconda voce di spesa mediamente pari al 16,5% del costo totale di trasformazione. In questa voce rientrano gli ammortamenti dei macchinari e delle strutture, le eventuali assicurazioni e la manutenzione. L'energia per la trasformazione e il riscaldamento degli ambienti di lavorazione è un costo molto variabile a seconda della fonte impiegata (energia elettrica, gas, legna). Il materiale

di consumo (caglio, teli, fascere) influisce sul costo di trasformazione per circa il 5%. La media del costo totale di trasformazione è pari a 24,85 € per 100 kg di latte, con un costo massimo pari a 50,47 €. E' stata calcolata anche la rendita di trasformazione media considerando il prezzo del latte pari a 41 €/100 kg. Tale rendita risulta dal rapporto tra l'utile del caseificio e i quintali di latte prodotto. La media della rendita di trasformazione è risultata pari a 12,07 €/100 kg, con un'elevata variabilità tra i caseifici. Dall'elaborazione dei dati emerge una correlazione positiva (12%) tra la quantità di latte trasformato e la rendita; mentre emerge una forte correlazione negativa (60%) tra la quantità di latte trasformato e i costi di trasformazione. In sostanza, più latte si lavora meno costi ci sono per unità di latte trasformato. Spesso, tuttavia, i produttori sono costretti a diminuire il prezzo di vendita del formaggio e questo giustifica una correlazione positiva solo del 12% tra il latte trasformato e la rendita di trasformazione.

**Tabella 28.** Costi di trasformazione del latte rilevati presso i caseifici produttori di SILTER (in grassetto i dati superiori alla media).

Azienda	Lavoro		Energia		Materiale consumo		Quote		Totale
	(€/100 kg)	(%)	(€/100 kg)	(%)	(€/100 kg)	(%)	(€/100 kg)	(%)	(€/100 kg)
1	12,47	64,8	<b>1,73</b>	<b>9,0</b>	0,87	4,5	4,17	<b>21,7</b>	19,24
2	15,79	58,3	<b>3,59</b>	<b>13,2</b>	0,96	3,6	<b>6,73</b>	<b>24,9</b>	<b>27,07</b>
3	<b>28,07</b>	66,1	<b>3,20</b>	7,5	<b>2,09</b>	<b>4,9</b>	<b>9,10</b>	<b>21,4</b>	<b>42,47</b>
4	10,12	68,9	0,89	6,1	0,79	5,4	2,90	<b>19,7</b>	14,70
5	11,44	71,0	0,42	2,6	0,57	3,6	3,68	22,8	16,11
6	<b>31,58</b>	62,6	<b>2,88</b>	5,7	<b>3,03</b>	<b>6,0</b>	<b>12,98</b>	<b>25,7</b>	<b>50,47</b>
7	<b>30,08</b>	<b>88,8</b>	0,00	0,0	<b>3,78</b>	<b>11,2</b>	0,00	0,0	<b>33,85</b>
8	11,84	<b>73,8</b>	1,30	<b>8,1</b>	<b>1,35</b>	<b>8,4</b>	1,55	9,7	16,04
9	13,16	<b>95,9</b>	0,00	0,0	0,56	4,1	0,00	0,0	13,72
10	<b>25,01</b>	<b>89,6</b>	0,20	0,7	0,38	1,4	2,32	8,3	<b>27,90</b>
11	8,22	44,1	<b>1,50</b>	<b>8,1</b>	0,71	3,8	<b>8,19</b>	<b>43,9</b>	18,63
12	10,77	66,4	0,39	2,4	<b>1,53</b>	<b>9,4</b>	3,54	<b>21,8</b>	16,22
13	<b>25,26</b>	<b>83,9</b>	0,52	1,7	0,28	0,9	4,04	13,4	<b>30,10</b>
14	12,76	<b>86,2</b>	0,60	4,0	0,45	3,0	1,00	6,7	14,80
15	7,89	49,9	<b>5,19</b>	<b>32,8</b>	0,67	4,2	2,05	13,0	15,81
16	<b>20,64</b>	<b>78,8</b>	<b>1,81</b>	<b>6,9</b>	<b>1,30</b>	<b>4,9</b>	2,45	9,4	<b>26,20</b>
17	7,72	71,3	0,70	<b>6,5</b>	0,25	2,3	2,14	<b>19,8</b>	10,82
18	<b>31,58</b>	71,8	0,87	2,0	<b>2,17</b>	<b>4,9</b>	<b>9,37</b>	<b>21,3</b>	<b>43,98</b>
19	15,79	67,1	<b>2,31</b>	<b>9,8</b>	<b>1,89</b>	<b>8,0</b>	3,56	15,1	23,54
20	15,74	<b>80,7</b>	0,90	4,6	1,09	<b>5,6</b>	1,77	9,1	19,50
21	<b>31,58</b>	<b>77,5</b>	0,87	2,1	1,09	2,7	<b>7,21</b>	<b>17,7</b>	<b>40,75</b>
Max	31,58	95,9	5,19	32,8	3,78	11,2	12,98	43,9	50,47
Min	7,72	44,1	0,20	0,7	0,25	0,9	1,00	6,7	10,82
Media	17,98	72,3	1,42	6,4	1,23	4,9	4,23	16,5	24,85

Interessante è il dato che riguarda l'utilizzo di innesto selezionato autoctono attualmente fornito al costo di 3,50 € per la dose da 5 Unità Caldaia (UC), ossia utilizzabile per la lavorazione di 500 kg di latte. Considerando i costi di trasformazione precedentemente indicati, il costo dell'innesto incide sugli stessi mediamente per il 2,81%. Ad inizio 2013, l'impiego annuo si attestava complessivamente a circa 1580 buste da 5 UC per i caseifici aziendali e a 300 nelle Cooperative C.I.S.S.V.A. e Val Palot.

È stata infine realizzata un'indagine conoscitiva sull'efficacia tecnologica della miscela autoctona proposta, indagine dalla quale emerge che l'utilizzo della miscela ha portato a un miglioramento delle produzioni con riduzione dei difetti nei formaggi, soprattutto gonfiore o sfoglia. I gonfiore, come noto, sono dovuti allo sviluppo di microrganismi anticaseari gasogeni, mentre la sfoglia è causata soprattutto da un errato utilizzo del lattoinnesto. L'utilizzo della miscela autoctona

ha mediamente ridotto del 90% i gonfiori e del 95% la sfoglia. La quasi totale eliminazione della sfoglia ha sorpreso ed entusiasmato molti casari che in passato avevano utilizzato fermenti liofilizzati commerciali riducendo i gonfiori, ma aumentando i casi di sfoglia. Come costantemente verificato nel corso di numerose lavorazioni presso quasi tutti i caseifici aderenti al Consorzio, l'ottimo risultato del fermento autoctono è imputabile all'acidificazione equilibrata e mai troppo spinta durante la sosta della cagliata. Dall'indagine emerge inoltre la propensione ad un maggior utilizzo della miscela autoctona in quanto efficace ausilio per ottenere produzioni più omogenee, soprattutto per quanto riguarda struttura e occhiatura del formaggio SILTER.



## 9. Conclusioni

I risultati del Progetto evidenziano una composizione centesimale e una microcomposizione piuttosto variabile tra i campioni di formaggio SILTER studiati. Parte di queste differenze sono il risultato di numerosi fenomeni (bio)chimici influenzati dalle pratiche artigianali, dalla raccolta del latte alla stagionatura del formaggio, adottate nella preparazione del SILTER da ciascun caseificio. Nondimeno, la variabilità appare ridotta tra i formaggi prodotti impiegando la miscela autoctona ovvero, per alcuni campioni testimone, è il risultato di fenomeni maturativi condizionati dallo sviluppo di batteri anticaseari. In questo senso, i risultati del Progetto dimostrano come la corretta acidificazione della cagliata operata dall'innesto autoctono addizionato in caldaia può rappresentare un utile ausilio per il superamento di tali problematiche senza modificare i fenomeni maturativi tipici del SILTER, attuati soprattutto dai microrganismi non starter. I dati ottenuti, infatti, confermano che i batteri dell'innesto autoctono svolgono un ruolo prevalentemente acidificante al quale si affianca una minima attività proteolitica e un'insignificante interazione nei confronti della proteolisi. Gli stessi risultati indicano che l'introduzione di starter autoctoni può, in alcuni casi, migliorare anche le caratteristiche sensoriali del formaggio SILTER.

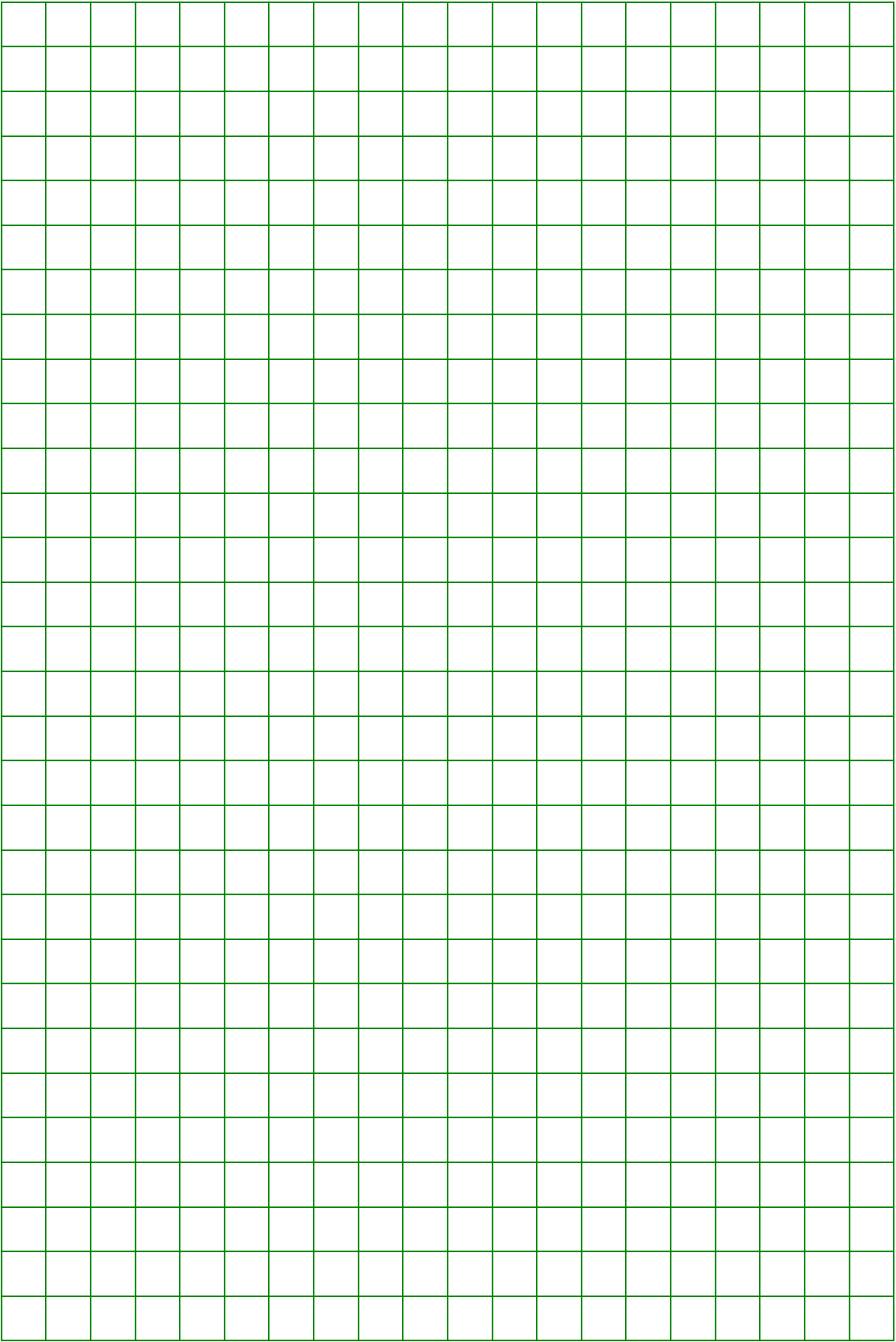
Più in generale, il Progetto VALTEMAS dimostra la necessità di eliminare dalla filiera di produzione del SILTER quella parte di "biodiversità" microbica che non serve per fare il formaggio, almeno quello di qualità. I risultati indicano altrettanto chiaramente la necessità di modificare una generalizzata diffidenza o avversione verso qualsiasi "aggiustamento" dei processi di caseificazione tradizionali motivata dal rischio di "standardizzazione" del prodotto. In realtà, il Progetto prova che i presupposti essenziali per la definizione delle caratteristiche di specificità del SILTER sono determinati dalla corretta impostazione iniziale, in termini caseari, del microbiota del latte crudo. Questa impostazione, facilitata dall'utilizzo di innesti autoctoni, determina in ultima analisi la salvaguardia dei microrganismi non starter, i soli capaci di determinare il raggiungimento di una "specificità" reale e non occasionale del formaggio SILTER.

## 10. Bibliografia essenziale

- Alais, C. (2000). I formaggi. Gli enzimi. I metodi moderni. - La proteolisi. In C. Alais, *Scienza del latte* (Terza edizione ed., p. 619-623). Milano: Tecniche Nuove.
- Bastian E.D., Brown R.J. (1996). Plasmin in milk and dairy products: an update. *Int. Dairy J.* 6, 435-457.
- Benson, J. V., Gordon, M. J., & Patterson, J. A. (1967). Accelerated Chromatographic Analysis of Amino Acids in Physiological Fluids Containing Glutamine and Asparagine. *Analytical Biochemistry*, 18(2), 228-240.
- Bevilacqua, A. E., & Califano, A. (1989). Determination of Organic Acids in Dairy Product by High Performance Liquid Chromatography. *Journal of Food Science*, 4(54), 1076-1079.
- Borreani, G., Tabacco, E., Arru, R., Giaccone, D., Peiretti, P. G., Battelli, G., Masoero, G. (2005). Realizzazione del fieno-silo per la valorizzazione delle risorse prative alpine e la produzione di formaggi di qualità. Parte III. Componente lipidica e terpenica del latte e dei formaggi. *Quaderni della Regione Piemonte*, 46, 29-32.
- Bouzas, J., Kannt, C. A., Bodyfelt, F., & Torres, A. (1991). Simultaneous Determination of Sugars and Organic Acids in Cheddar Cheese by High Performance Liquid Chromatography. *Journal of Food Science*, 56, 276-278.
- Cattaneo S., Hogenboom J. A., Masotti F., Rosi V., Pellegrino L., Resmini P. (2008). Grated Grana Padano cheese: new hints on how to control quality and recognize imitations. *Dairy Science & Technology*, 88, 595-605.
- Christopherson, S. W., & Glass, R. L. (1969). Preparation of Milk Fat Methyl Esters by Alcoholysis in an Essentially Nonalcoholic Solution. *Journal of Dairy Science*, 52(8), 1289-1290.
- Corradini, C. (1995). *Chimica e Tecnologia del Latte*. Milano: Tecniche Nuove.
- Cotter, P. D., & Hill, C. (2003). Surviving the Acid Test: Responses of Gram-Positive Bacteria to Low pH. 67(3), 429-453.
- Grappin, R., Rank, T. C., & Olson, N. F. (1985). Primary Proteolysis of Cheese Proteins During Ripening. A Review. *Journal of Dairy Science*, 68(3), 531-540.
- International Standard. (2001). *ISO 8261 / IDF 122. Milk and milk products - General guidance for the preparation of test samples, initial suspensions and decimal dilutions for a microbiological examination*.
- International Standard. (2004). *ISO 1735 / IDF 5. Cheese and processed cheese - Determination of fat content - Gravimetric method (Reference method)*.
- International Standard. (2004). *ISO 4120. Sensory analysis - Methodology - Triangle test*.
- International Standard. (2004). *ISO 5534 / IDF 4. Cheese and processed cheese - Determination of the total solids content (Reference method)*.
- International Standard. (2007). *ISO 22662 / IDF 198. Cheese and milk products - Determination of lactose content by high-performance liquid chromatography (Reference method)*.
- International Standard. (2011). *ISO 27871 / IDF 224. Cheese and processed cheese - Determination of the nitrogenous fractions*.
- Masotti, F., Cattaneo, S., Rosi, V., & De Noni, I. (2011). Il Latte, i suoi componenti e la trasformazione casearia. In V. Bozzetti, *Manuale lattiero caseario* (p. 3.1-3.46). Milano: Tecniche Nuove.
- Mucchetti, G., & Neviani, E. (2006). *Microbiologia e Tecnologia Lattiero-Casearia. Qualità e Sicurezza*. Milano: Tecniche Nuove.
- Nelson, D. L., & Cox, M. M. (2002). Glicolisi e Catabolismo degli Esosi. In *I Principi di Biochimica di Lehninger* (p. 517-551). Bologna: Zanichelli.
- Pellegrino L., Tirelli A., De Noni I., Resmini P. (2003). Valutazione del Grana Padano grattugiato attraverso la determinazione per elettroforesi capillare di frazioni caseiniche e di loro peptidi di degradazione, *Sci. Tecn. Latt.-Cas* 54 321-333.
- Pellegrino, L., Hogenboom, J.A., Pazzaglia, C., Todesco, R.. La caratterizzazione analitica del formaggio Fontina sulla base della sua composizione in amminoacidi liberi. *Latte*, 20 (10), 1086-1093 (1995).
- Poolman, B., Driessen, A. J., & Konings, W. N. (1987). Regulation of arginine-ornithine exchange and the arginine deiminase pathway in *Streptococcus lactis*. *Journal of Bacteriology*, 169(12), 5597-5604.
- Resmini P., Pellegrino L., Pazzaglia C., Hogenboom J.A. (1985). Gli amminoacidi liberi nella tipizzazione del formaggio Parmigiano-Reggiano ed in particolare del prodotto grattugiato, *Sci. Tecn. Latt.-Cas.*, 36 557-592.
- Spackman, D. H., Stein, W. H., & Moore, S. (1958). Automatic Recording Apparatus for Use in Chromatography of Amino Acids. *Analytical Chemistry*, 30(7), 1190-1206.

## Appunti









**RegioneLombardia**  
Agricoltura

**Ricerca e Sperimentazione in Agricoltura**  
[www.agricoltura.regione.lombardia.it](http://www.agricoltura.regione.lombardia.it)