

STABILITA' DI UN FORMAGGIO FRESCO A PASTA FILATA. VALUTAZIONI ANALITICHE TRADIZIONALI E CON UNO *SMART NOSE SYSTEM*

KEEPING QUALITY OF A FRESH STRINGY CHEESE. APPLICATION OF TRADITIONAL METHODS AND ANALYSIS WITH A SMART NOSE SYSTEM

Conte F., Rapisarda T.¹, Belvedere G.¹, Beninati C., Carpino S.¹, Licitra G.¹
 Dipartimento di Sanità Pubblica Veterinaria, Università degli Studi, Messina
¹CoRFiLaC, Regione Siciliana, Ragusa

SUMMARY

The study was applied to samples of a fresh stringy cheese from bovine, ewe and goat milk obtained from a small dairy in Sicily. Cheese samples, vacuum packaged and without package, were stored at $5\pm 1^\circ\text{C}$ and evaluated from 0 to 15 days. Keeping quality was studied using evaluated with a *SMart Nose System* (SN) and by a Solid Phase Micro Extraction.Gas Chromatography (SPME/GC-MS) procedure. The obtained data allowed to give a shelf life of 10 days for packaged cheese; a 3 days period was considered for non packaged samples. The study of volatiles by SPME-GC/MS gave a useful information about samples profile; nevertheless the results were not related to cheese durability. The evaluation of the odour profile by SN allowed an objective and rapid measurement of volatiles that can be easily related to the shelf life for routine quality control of cheese.

KEYWORDS

stringy cheese, keeping quality, hygiene, Electronic Nose

INTRODUZIONE

Le variazioni della componente volatile dei prodotti alimentari, dovute a fenomeni degradativi di varia origine (enzimi costitutivi e microbi, azione della luce e dell'ossigeno, ecc.), sono correlabili allo stato di conservazione e, dunque, alla loro durabilità (1). Difatti, la valutazione della frazione volatile degli alimenti sta acquisendo un ruolo emergente e l'industria alimentare ne riconosce il valore pratico per la definizione della shelf life (2). Essa deve essere valutata anche in base alle reazioni dei consumatori e questa è la vera novità rispetto all'approccio tradizionale, complicato da marker chimici, fisici e microbiologici (3).

Riguardo i prodotti lattiero – caseari, la valutazione della shelf life con sistemi innovativi è stata oggetto di diversi studi. Ne è un esempio l'applicazione della tecnica SPME/GC-MS (Solid

Phase Microextraction-Gas Chromatography/Mass Spectrometry) che, associata a valutazioni fisico-chimiche e microbiologiche, ha fornito utili indicazioni sulla durabilità di formaggi spalmabili e prodotti fermentati, sperimentali o prelevati dalla normale vendita (4, 5, 6,7). La shelf life degli alimenti è stata definita anche mediante un naso elettronico (NE) che si basa su tecniche sensoriali poco invasive e più rapide, applicabili nel monitoraggio *on line* semi-automatizzato della componente volatile (3). Il NE è stato applicato per diversi scopi: studio dell'aroma del Cheddar; valutazione del grado di stagionatura di Pecorino Toscano; individuazione di muffe in formaggio Parmigiano; definizione dell'origine geografica di un formaggio; classificazione degli off-odours prodotti da batteri alteranti (8). In formaggio Crescenza, le analisi tradizionali, associate ad un NE, hanno consentito di definirne o confermarne la shelf

life (9); quest'ultima è stata valutata anche per Taleggio e ricotta industriale confezionati con la stessa modalità (10,4). Inoltre, con uno *SMart nose System* sono state studiate le variazioni del profilo aromatico del formaggio siciliano Piacentinu in relazione all'aggiunta di due tipi di zafferano ed alle tecniche di produzione (6). Infine, l'analisi in GC/MS e con NE ha consentito di delineare il pattern aromatico per il formaggio Svizzero (12).

Sulla base di quanto appena riportato, ci è parso utile riferire i risultati di una nostra esperienza sulla valutazione qualitativa di un formaggio fresco a pasta filata che è molto gradito ai consumatori, in una ristretta nicchia di mercato in Sicilia. Il produttore, infatti, ci aveva riferito che, a circa 15 giorni dal confezionamento è stata più volte notata una quota inusuale di un liquido biancastro all'interno della confezione sottovuoto utilizzata per la vendita. Abbiamo, pertanto, ritenuto opportuni alcuni approfondimenti a carattere analitico per le quali alle tecniche di laboratorio tradizionali è stato affiancato uno *SMart Nose System*.

MATERIALI E METODI

La lavorazione del formaggio usualmente comporta l'impiego di latte crudo vaccino (80%), ovino e caprino (in totale 20%). Alla miscela, scaldata a $39 \pm 1^\circ \text{C}$, è aggiunto il caglio naturale di agnello e capretto (3 gr/10 l); si applica, quindi, la tecnica dei formaggi a pasta filata fresca per ottenere una sorta di ciambella di circa 300 grammi. Seguono: salatura in salamoia allo 0.8 % di NaCl per 30', asciugatura per 2 h a temperatura ambiente, confezionamento sottovuoto in film plastico termoretraibile (spessore $\cong 95 \mu\text{m}$) (SV). Per il nostro studio, oltre ai campioni SV, sono stati approntati anche formaggi non preincartati (C). Essi sono stati trasportati in laboratorio a $4 \pm 1^\circ \text{C}$ ed esaminati all'arrivo (giorno 0) e dopo 3, 7, 12 e 15 gg di conservazione refrigerata a $5 \pm 1^\circ \text{C}$. L'esame microbiologico, previo allestimento dell'omogenato e delle diluizioni seriali in acqua peptonata tamponata, ha previsto la numerazione di: batteri lattici (BL) in MRS agar (Oxoid), incubazione a 37°C per 48 h in aerobiosi; flora psicrotrofa totale (FPT) in Plate Count Agar (Oxoid), incubazione a $+17^\circ \text{C}$ per 16 h e, successivamente a 7°C per 3 gg (13); muffe e lieviti (ML) in agar con CAF, incubazione a 25°C per 5-7 gg; Enterobatteri totali (ET) in VRBGA, incubazione a $35 - 37^\circ \text{C}$ per 24 - 48 h (14); Stafilococchi (STAF) in Staphylococcus medium 110 (Oxoid), incubazione a $35 - 37^\circ \text{C}$ per 24 - 48 h. Sono state determinati anche pH (pHmetro

Hanna Instr., Padova) e a_w (sistema AquaLab, Dec. Dev., Instr., USA).

Tabella 1. Indici microbiologici (in \log_{10} ufc gr^{-1}) e fisico - chimici dei campioni C e SV

	Camp	Giorni di conservazione refrigerata				
		0	3	7	12	15
pH	C	4.9	5.3	5.3	5.5	5.44
	SV	5.2	5.2	5.4	5.4	5.5
a_w	C	0.958	0.975	0.978	0.923	0.966
	SV	0.965	0.981	0.976	0.963	0.978
PSI	C	7,17	7,56	7,30	5,17	5,62
	SV	7,23	7,71	8,20	5,73	6,60
BL	C	8,66	9,92	7,41	8,23	10,92
	SV	8,60	9,47	9,39	10,34	11,14
ML	C	<1	4,41	4,43	6	6,34
	SV	<1	-	<1	<1	3,91
ET	C	<1	<1	<1	<1	2,30
	SV	<1	<1	<1	<1	2,74
STAF	C	<1	<1	<1	<1	<1
	SV	<1	<1	<1	<1	<1

La frazione volatile è stata valutata con uno *SMart Nose System* (SN) (LDZ, CH-2074 Marin-Epagnier); dopo sminuzzamento di 4 grammi di campione, si è fatto ricorso alla procedura riportata in altra sede (14). Seguiva l'estrazione dei componenti volatili mediante SPME (fibra trifasica: DVB/CAR/PDMS; 50/30 μm stationary phase/film thickness, Supelco, USA) sui campioni a 0, 7 e 15 gg. I composti volatili organici (VOCs) erano identificati con gas cromatografo (Agilent GC system 7890A) associato ad uno spettrometro di massa (Agilent Mass Selective Detector 5975C with triple Axis detector) (GC/MSD).

RISULTATI

La confezione del campione SV, al 15° giorno, conteneva soltanto una modesta quota di liquido trasparente, che è stata ritenuta nei limiti della norma. Dopo l'apertura della confezione, si avvertiva un odore acre, pungente, di "pesce stantio" che si è gradatamente attenuato. L'odore era impercettibile nel formaggio C; esso si è caratterizzato per un sentore simile a quello di "pecorino fresco". Inoltre, sulla superficie di tale campione erano distribuite numerose ed impercettibili formazioni di colore bianco calce, rotonde e rilevate. La superficie esterna dei campioni SV era lucida e manteneva, per lo più, il colore biancastro originario, al contrario del prodotto C.

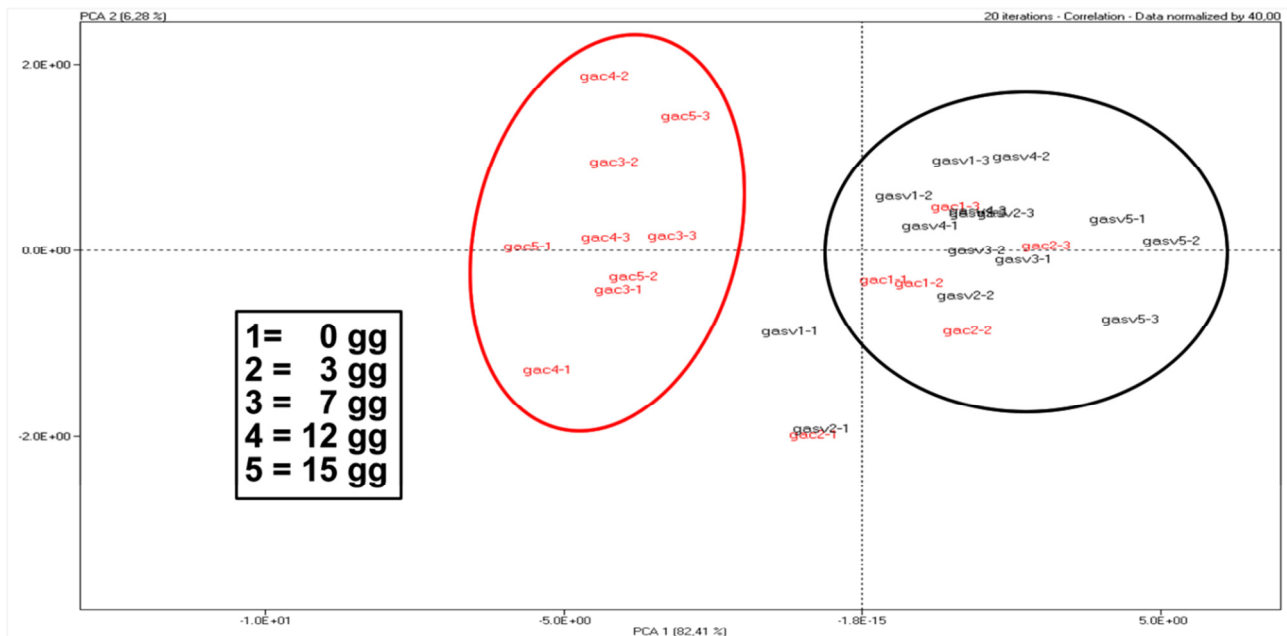
I dati analitici dei formaggi esaminati, come da tabella 1, hanno fatto osservare quanto segue: i) il pH, inizialmente più ridotto nel campione

C, non ha differenziato nettamente i due formaggi fino al termine della conservazione; **ii**) i valori dell' a_w hanno subito un lieve aumento, seppur non costante, nel corso della refrigerazione; il fenomeno era poco più evidente in **SV**. L'andamento delle cariche microbiche ha fatto osservare: **i**) elevate quote di **PSI** e **BL** in ambedue i formaggi, già a **0** e **3 gg**; **ii**) a **7 gg**, in **SV**, era maggiore la quota di **PSI** e **BL**; tale tendenza era osservabile fino a 15 gg, al contrario degli **PSI** che subivano un decremento drastico nei due campioni; **iii**) i lieviti erano predominanti in **C**, tendendo a valori elevati rispetto a **SV**; non sono state mai evidenziate muffe; **iv**) gli **ET** erano rilevabili solo a 15 gg, in ambedue i campioni; **v**) non erano presenti

STAF con caratteri di potenziale patogenicità.

Dai risultati della Principal Component Analysis (**PCA**) (figura 1) è emerso che **PC1** e **PC2** costituivano l'88,69% della varianza totale; in particolare, sulla **PC1** è risultata una varianza spiegata dell'82,41% e del 6,28% sulla **PC2**. Modificazioni statisticamente significative, per i formaggi **C** sono state notate a partire dal 7° giorno; al contrario, per i prodotti **SV** non era indicata alcuna variazione significativa fino al 15° giorno. Infatti, i campioni **SV** si sono separati da quelli **C** già a 7 gg (**gsv3**, quadrante dx); al contrario, i campioni **C** erano stabili dopo 15 gg (**gac5**, quadrante sx).

Figura 1. PCA dei campioni di formaggio (gaC, gaSV)



All'analisi **SPME/GC-MSD** (tab.2) è emerso un maggior numero di componenti volatili in **SV**. Prevalsa la classe degli alcoli, seguita da acidi grassi, aldeidi, idrocarburi, chetoni ed esteri. I campioni a **0 g** hanno presentato un più alto numero di composti alcolici rispetto a quelli a 7 e 15 gg. L'alcol fenil etilico era l'unico composto sempre comune ai campioni **C** e **SV**, al pari dei chetoni. Nei formaggi **SV**, a 7 e 15 gg, è stato rilevato il numero più alto di acidi grassi liberi.

CONSIDERAZIONI E CONCLUSIONI

I risultati delle analisi fisico-chimiche e microbiologiche non sono state ritenute determinanti per definire il periodo di stabilità dei formaggi esaminati. Solo l'andamento dei lieviti ha indi-

cato una minore conservabilità dei campioni. Già a giorno **0**, le alte cariche di **FP** e **BL**, avrebbero indicato l'inaccettabilità dei prodotti. Riteniamo, al contrario, che l'uso di latte crudo, l'assenza di colture selezionate e la persistenza di parte della flora dopo la filatura, abbiano rappresentato i principali fattori che hanno contribuito a mantenere elevati i livelli della flora microbica di base. Per ciò che concerne gli **PSI**, è verosimile che essi abbiano subito l'influenza numerica dei **BL**. Inoltre, nei prodotti **SV**, il tipo di confezionamento, favorendo la proliferazione dei microrganismi anaerobi o anaerobi facoltativi, servirebbe a giustificare il riscontro di un più elevato numero di **BL** dopo 12 gg. Inoltre, il caglio può essere stato responsabile dei particolari sentori apprezzati a 10 gg nei campioni **SV**, unitamente alla nota attività metabo-

lica degli **PSI**; non sarebbe da escludere anche l'attività dei **BL** che possono avere subito variazioni quali-quantitative durante il periodo di refrigerazione. Le cariche di **ENT**, adeguate fino a 10 gg nei due i campioni, unitamente ai livelli di **STAF**, hanno testimoniato le corrette procedure igieniche.

L'analisi in **SPME/ GC-MSD** ha fornito una caratterizzazione dei formaggi, evidenziando alcune differenze qualitative tra **C** e **SV**. I chetoni ettanone e nonanone, sempre rilevati, sono usualmente responsabili dei tipici odori del formaggio. Gli alcoli, classe di composti preponderante nei campioni, derivano da vegetali freschi e la loro presenza sarebbe, quindi, da corre-

lare all'alimentazione degli animali; ciò varrebbe anche per le aldeidi, tra cui decanale, una sostanza organica naturale usata per la produzione di profumi, aromatizzanti ed oli essenziali. L'alcol fenil etilico, sempre presente in **C** ed **SV**, conferisce note di miele. Gli acidi grassi liberi, maggiormente presenti in **SV**, contribuiscono all'odore tipico dei formaggi da latte crudo e misto; tali composti rappresentano una fonte di potenziali note sgradevoli. La presenza di idrocarburi, quasi esclusivi dei campioni **SV**, è stata ricondotta al contatto con l'involucro plastico; infatti, il riscontro di cicloeptano, uno tra i componenti della paraffina, ha fatto ipotizzare la migrazione del composto nel formaggio.

Tabella 2. Componenti volatili dei campioni a 0, 7, e 15 gg

Composto volatile	Classe chimica	Note sensoriali	LRT	gg di conservaz. refrigerata					
				C			SV		
				0	7	15	0	7	15
acido butanoico	acido	formaggio, alzino sporco	7.70	*	*	*	*	*	*
acido esanoico	acido	sudore	12.97	*	*	*	*	*	*
acido ottanoico	acido	formaggio, calzino sporco	17.62	*	*	*	*	*	*
acido ettanoico	acido		22.06					*	*
Acido decanoico	acido	formaggio, rancido	29.60					*	*
1-butanol,3-metile	alcol		5.83	*	*		*		
1-pentanol	alcol	balsamico	6.59	*	*	*	*	*	
4-ettanol-2,6-dimetile	alcol		12.06				*		*
1-esanol,2-etile	alcol	miele	13.92	*			*		*
1-ottanol	alcol	bruciato	14.99	*			*		*
alcol fenil etilico	alcol		16.16	*	*	*	*	*	*
2-nonen-1-olo	alcol		18.35	*					
1,7-ettanediolo	alcol		20.68					*	
2-nonen-1-olo (E)	alcol		22.88			*		*	
ettanale	aldeide	rancido	10.34	*	*		*		
benzaldeide	aldeide	mandorla	12.07	*			*		
benzenacetaldeide	aldeide		14.31			*			
nonanale	aldeide	di verde,erbaceo	15.86		*				*
decanale	aldeide	sapone	18.36		*	*	*	*	*
2-ettanone	chetone	fresco, di panna	10.07	*	*	*	*	*	*
2-nonanone	chetone	fresco, di atte	15.54	*	*	*	*	*	*
etil pentanoato	estere		18.12			*	*		*
ettano-2,2,4,6,6-pentametile	Idrocarb.		12.85				*		
cicloeptano	Idrocarb.		15.85				*	*	
2H-piran-2-one,6-ettiltetraidro	Idrocarb.		24.77			*		*	*
Totale				13	11	12	17	14	15

Legenda. LRT, tempi di ritenzione lineare mediante colonna HP-5

I risultati ottenuti con lo **Smart nose system** sono stati considerati affidabili per la determinazione dei livelli di stabilità dei formaggi. L'associazione di tale analisi con alcuni parametri fisico-chimici e microbiologici, ottimizzandone l'efficacia, consente di esprimere un giudizio definitivo sulla durabilità dei formaggi; ciò si allinea all'opinione di altri autori. Tale

approccio, se valutato adeguatamente, risulterebbe di immediato impatto pratico per gli operatori del settore. Nel nostro studio, le valutazioni emerse dai rilievi analitici, hanno fatto propendere per una conservabilità di 3 giorni per il formaggio **C**; per il prodotto **SV**, invece, la shelf life potrebbe essere prolungata fino a 10 giorni.

I provvedimenti che, a nostro parere, possono essere messi in atto per ottimizzare la produzione e la stabilità dei formaggi esaminati hanno riguardato il trattamento della materia prima, mediante termizzazione o pastorizzazione, e l'uso di colture selezionate che, pur mantenendo l'identità del prodotto, contribuirebbero all'inibizione competitiva nei riguardi di microrganismi alteranti e/o potenziali patogeni ed a standardizzarne la flora microbica di partenza.

BIBLIOGRAFIA

1. Milanello S. (2005). Tecniche innovative per la valutazione della shelf-life. Il latte. 5: 52 - 54
2. Freitas M.A., Costa J.C. (2006). Shelf life determination using sensory evaluation scores: general Weibull modeling approach. *Computers & Industrial Engineering*, 51, 652-670
3. Porretta S. Shelf life degli alimenti. Meccanismi, valutazione, previsione. Chiriotti editore, Pinerolo (TO), 2008
4. Toppino, P. M., L. Campagnoli, D. Carminati, G. Mucchetti, M. Povolo, S. Benedetti, Riva M.. (2004). Shelf life study of packed industrial ricotta cheese. *Italian Journal of Food Science*, Special Issue, 252-265.
5. Verzera A., Ziino M., Condurso C., Romeo V., Conte F. (2007). Flavour and shelf life of fresh spreadable cheeses. *Italian Journal of Food Science*, Special Issue, 453-455
6. Condurso C., Verzera A., Ziino M., Romeo V., Toscano M., Conte F. (2006). A rapid SPME-GC/MS method for volatile determination in fermented milks. *Rivista Italiana EPPOS*, 40, 12, 25 - 31
7. Conte F., Verzera A., Barreca M., Romeo V., Ziino M. (2004). "Caprino" Fresh Cheese: Composition, Hygiene and Flavour. *Cheese Art 2004*, Ragusa, Donna Fugata Castle, June 1st - 6th, 2004, 201 - 209
8. Ampuero S., Bosset J.O. (2003). The electronic nose applied to dairy products: a review. *Sensor and Actuators B* 94, 1-12
9. Benedetti S., Sinelli N., Buratti S., Riva M. (2005). Shelf Life of Crescenza Cheese as measured by Electronic Nose. *Journal of Dairy Science* 88, 3044-3051
10. Benedetti, S., Toppino P.M., Riva M. (2002). Studio della shelf life del formaggio Taleggio confezionato. 2. Applicazione di un naso elettronico. *Scienza e Tecnica Lattiero Casearia* 53, 259-282.
11. Carpino S., Rapisarda T., Belvedere G., Licitra G. (2008). Volatile fingerprint of Piacentinu cheese produced with different tools and type of saffron. *Small Ruminant Research*, 79: 16-21
12. Jou, K. D., and Harper W. J.. (1998). Pattern recognition of Swiss cheese aroma compounds by SPME/GC and an electronic nose. *Milchwissenschaft* 53, 259-263.
13. American Public Health Association. "Standard methods for the examination of dairy products". R.T. Marshall PhD, Editor, 16th Edition, Washington, 1992.
14. Conte F., Rapisarda T., Belvedere G., Carpino S. (2009). Shelf life del latte d'asina: batteriologia e componente volatile. *XIX Conv.Naz. A.I.V.I.*, Perugia, 24 -26 giugno 2009.