

CARATTERISTICHE AROMATICHE DI FORMAGGIO PECORINO PRODOTTO CON LATTE DI ANIMALI ALIMENTATI CON DIETE A DIVERSA CONCENTRAZIONE DI LINO ESTRUSO

AROMATIC CHARACTERISTICS OF PECORINO CHEESES OBTAINED FROM MILK OF EWES FED DIETS CONTAINING DIFFERENT EXTRUDED LINSEED CONCENTRATIONS

Branciarri R.¹, Miraglia D.¹, Ranucci D.¹, Esposito S.², Trabalza Marinucci M.³, Servili M.², Avellini P.¹, Valiani A.⁴

⁽¹⁾ Dipartimento di Scienze Biopatologiche ed Igiene delle Produzioni Animali e Alimentari;

⁽²⁾ Dipartimento di Scienze Economiche-Estimative e degli Alimenti;

⁽³⁾ Dipartimento di Patologia, Diagnostica e Clinica Veterinaria; Università degli Studi di Perugia.

⁽⁴⁾ Istituto Zooprofilattico Sperimentale dell'Umbria e delle Marche.

SUMMARY

The aim of the present study is to investigate the flavour characteristics of ewe cheeses made with two different techniques (cheeses obtained from raw milk or from thermized milk with adjunct starter cultures) and using milk from animals fed diets with different concentrations of extruded linseed. Aromatic differences linked to the linseed concentrations in the diets were found for the raw milk cheeses, while no such differences were found in the cheeses made from thermized milk with adjunct starter cultures.

Key words

Ewe cheese, flavour, extruded linseed

INTRODUZIONE

Gli alimenti di origine animale possono contenere una serie di costituenti, di natura nutrizionale ed extra-nutrizionale, che intervengono nella prevenzione di diverse patologie dell'uomo (1). Alcuni acidi grassi essenziali (omega-3 e CLA-*Conjugated linoleic acid*) contenuti nella materia grassa del latte, sono, ad esempio, di notevole interesse perchè hanno attività antitumorale, antiaterogena, immunomodulatrice, antidiabetica e di promozione della crescita (1,2,3,4). Il contenuto di questi composti nel latte e conseguentemente nei formaggi ovini è favorito dalla somministrazione agli animali di diete integrate con foraggi verdi oppure da livelli appropriati di oleaginose come il lino (3,5). Tuttavia, una conseguenza dell'impiego di tale integrazione potrebbe essere lo sviluppo di odori indesiderati nei prodotti e quindi influenzare negativamente la

scelta da parte del consumatore (6, 7). Scopo del presente lavoro è stato quello di valutare le caratteristiche olfattive di formaggio pecorino, prodotto con due diverse tecniche di caseificazione utilizzando latte di animali alimentati con differenti livelli di lino estruso.

MATERIALI E METODI

La raccolta del latte e la produzione del formaggio sono state effettuate nel periodo febbraio-maggio 2008. Il latte proveniva da pecore di razza sarda allevate presso l'azienda zootecnica didattica della Facoltà di Medicina Veterinaria dell'Università di Perugia. La sperimentazione ha previsto l'impiego di tre gruppi di pecore di razza sarda (20 animali per gruppo) alimentati con fieno polifita e mangime integrato con diverse percentuali di lino estruso a

partire da un mese prima fino a due mesi dopo il parto. I mangimi impiegati, isoenergetici ed isoproteici, sono stati i seguenti: un "controllo" privo di lino (CTRL) e due integrati rispettivamente con il 10% (LE10) ed il 20% (LE20) di lino estruso. Gli animali, dopo lo svezzamento degli agnelli (effettuato a 40 gg dal parto), sono stati munti due volte al giorno mediante mungitura meccanica. Il latte dei diversi gruppi è stato raccolto separatamente e individuato come L-CTRL, L-LE10, L-LE20. Sul latte di massa utilizzato per le caseificazioni e proveniente da ciascun gruppo di pecore, sono stati eseguiti i seguenti esami batteriologici al fine di stabilire le condizioni microbiologiche di partenza e le eventuali differenze tra i tre gruppi: numerazione di stafilococchi coagulasi positivi (norma UNI EN ISO 6888-2:2004); numerazione delle *Enterobacteriaceae* (norma ISO 21528-2:2004); numerazione degli enterococchi (Slanetz-Bartley, BioKar Diagnostics, a 37°C per 48h). La caseificazione è stata effettuata separatamente per i tre gruppi sperimentali, utilizzando il latte di tre giorni di mungitura mantenuto a 4 °C, secondo due diverse tecniche: caseificazione a latte crudo (FC) in cui i formaggi, suddivisi in tre tipologie (FC-CTRL, FC-LE10, FC-LE20) in base al latte impiegato, sono stati stagionati in un locale non condizionato per 60 giorni; caseificazione con latte sottoposto a termizzazione (FS) (65 °C per 10 secondi) con l'aggiunta di starter del commercio (*Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei*, *Streptococcus termophilus*) in cui i formaggi, (FS-CTRL, FS-LE10, FS-LE20), sono stati posti a stagionare in una cella condizionata (T 12°C, 85% U.R.) per 60 gg. Dopo tale periodo tre formaggi per ogni caseificazione sono stati sottoposti ad analisi microbiologiche per le seguenti determinazioni: numerazione di stafilococchi coagulasi positivi (UNI EN ISO 6888-2:2004); numerazione *Enterobacteriaceae* (norma ISO 21528-2:2004); numerazione enterococchi (Slanetz-Bartley, Biokar Diagnostics, a 37°C per 48h); numerazione lattobacilli (MRS Agar acidificato, Oxoid, a 37°C per 72h in anaerobiosi); numerazione lattococchi (M17 Agar, Biokar Diagnostics, a 30°C per 48h). Campioni di latte (L-CTRL, L-LE10, L-LE20) e di formaggio (FC-CTRL, FC-LE10, FC-LE20; FS-CTRL, FS-LE10, FS-LE20) provenienti dai diversi gruppi sperimentali sono stati quindi sottoposti al giudizio di un panel di esperti (n=12) utilizzando test triangolare (UNI U590A2520, 2001) allo scopo di individuare differenze olfattive fra i campioni. Per il latte ciascun assaggiatore ha ricevuto un campione di 30 ml servito a temperatura ambiente. I campioni di formaggio sono stati serviti in pezzi (2 cm x 2 cm x 2 cm) dopo essere stati lasciati a temperatura am-

biente 2 ore prima della prova. Per ogni valutazione sensoriale è stato eseguito inoltre un test di preferenza (UNI ISO 5495, 2001). Differenze statisticamente significative sono state determinate secondo il metodo di Roessler et al. (1978). Gli stessi campioni sono stati inoltre sottoposti ad analisi strumentale con naso elettronico. Le misure al naso elettronico, sono state condotte con un Sistema Olfattivo Elettronico di sensori ad ossidi di metallo (EOS⁸³⁵), costruito internamente alla Sacmi Industry (S.r.l., Imola), con campionamento a spazio di testa statico. Per le misure, è stato usato un batch di sensori MOS, assemblato presso il "Sensor Laboratory" del Dipartimento di Chimica e Fisica per l'Ingegneria e per i Materiali (Università di Brescia). I sensori erano i seguenti: Sensore 1: SrAu mantenuto alla temperatura di 400 °C; Sensore 2: SrAg mantenuto alla temperatura di 450 °C; Sensore 3: WO3 mantenuto alla temperatura di 350 °C; Sensore 4: SrMo mantenuto alla temperatura di 450 °C; Sensore 5: SnIn mantenuto alla temperatura di 450 °C; Sensore 6: InO3 mantenuto alla temperatura di 475 °C. Le misurazioni sono state eseguite nel modo seguente: 15 ml di latte (L-CTRL, L-LE10, L-LE20) e 10 gr di formaggio grattugiati (FC-CTRL, FC-LE10, FC-LE20; FS-CTRL, FS-LE10, FS-LE20) venivano posti a bagnomaria alla temperatura di 37°C per 15 minuti. Ogni misurazione degli spazi di testa è stata caratterizzata da 4 steps di diversa durata: "before"= 60 secondi; "during"= 60 secondi; "after"= 108 secondi; "wait"= 240 secondi. Per ogni misura effettuata il risultato è stato calcolato mediante il rapporto tra la variazione massima della resistenza di un sensore ed il valore relativo alla linea di base ($\Delta R/R_0$). I dati ottenuti sono stati processati con il pacchetto "Nose Pattern Editor" (Sacmi) usato sia per la fase di feature extraction sia per la fase successiva di elaborazione. In fine i valori ottenuti sono stati rielaborati mediante Modelli di Analisi Statistica Multivariata per l'Analisi delle Componenti Principali (PCA).

RISULTATI

I risultati delle analisi batteriologiche del latte e dei formaggi hanno dimostrato che il latte proveniente dai tre gruppi di animali presentava differenze inferiori a 1 Log per ogni parametro considerato ad eccezione di stafilococchi coagulasi positivi rilevati su latte LE20 (Tabella 1). Anche nei formaggi, nell'ambito della stessa tipologia di caseificazione, le differenze, per i microorganismi ricercati, non hanno mai superato 1 Log tranne per stafilo-

Tabella 1. Risultati microbiologici di latte (Log ufc/ml) e formaggi (Log ufc/g)

	Enterobatteri Media \pm d.s.	Staf. Coag. + Media \pm d.s.	Enterococchi Media \pm d.s.	Lattococchi Media \pm d.s.	Lattobacilli Media \pm d.s.
L-CTRL	2,89 \pm 0,34	<1	3,36 \pm 0,16	n.d.	n.d.
L-LE10	2,55 \pm 0,52	<1	3,12 \pm 0,08	n.d.	n.d.
L-LE20	2,74 \pm 0,16	2,62 \pm 0,07	2,98 \pm 0,09	n.d.	n.d.
FC-CTRL	6,28 \pm 0,11	<1	7,99 \pm 0,15	8,65 \pm 0,08	8,48 \pm 0,35
FC-LE10	6,59 \pm 0,48	<1	8,35 \pm 0,48	8,31 \pm 0,14	8,31 \pm 0,26
FC-LE20	6,18 \pm 0,12	4,17 \pm 0,18	8,29 \pm 0,32	8,24 \pm 0,31	8,40 \pm 0,53
FS-CTRL	4,24 \pm 0,06	<1	5,19 \pm 0,18	8,26 \pm 0,46	8,87 \pm 0,28
FS-LE10	4,06 \pm 0,35	<1	4,94 \pm 0,56	8,59 \pm 0,31	9,07 \pm 0,26
FS-LE20	3,88 \pm 0,40	2,06 \pm 0,25	4,72 \pm 0,26	8,62 \pm 0,42	8,91 \pm 0,28

n.d.= non determinato

cocchi coagulasi positivi presenti sia in FC-LE20 sia in FS-LE20. Nei formaggi FS si è riscontrata inoltre una minor presenza del tenore in *Enterobacteriaceae* ed enterococchi rispetto ai formaggi del gruppo FC.

Per quanto riguarda le analisi sensoriali (test triangolare e test di preferenza) svolte sui campioni di latte e formaggi, i risultati sono riportati in Tabella 2. Il test triangolare ha evidenziato l'esistenza di differenze sensoriali tra i campioni di latte proveniente dai tre diversi gruppi di animali. Differenze significative sono state evidenziate anche dal confronto tra i formaggi FC (FC-CTRL, FC-LE10, FC-LE20) mentre nessuna differenza è stata percepita tra i formaggi FS. Per quanto riguarda i risultati del test di preferenza, nell'ambito dei formaggi FC, i giudici hanno preferito i formaggi FC-CTRL rispetto a FC-LE10 e FC-LE20 e i formaggi FC-LE10 rispetto a FC-LE20. Nessuna preferenza significativa è emersa dal confronto dei formaggi FS. Risultati analoghi sono stati ottenuti analizzando i campioni di latte e formaggio, con il naso elettronico. Come si osserva dal modello PCA di Figura 1, infatti, lo strumento era in grado di discriminare i campioni di latte in funzione della diversa tipologia di prodotto. In particolare, lungo la prima componente del modello, la distanza tra i campioni L-CTRL e L-LE20 dimostra una differenza di composizione di spazio di testa tra questi due gruppi. Il modello PCA riportato in Figura 2 rappresenta invece l'elaborazione dei dati del naso elettronico ottenuti analizzando i formaggi FC e FS. È possibile

notare, lungo la prima componente, che le due tipologie di formaggi sono separate in due cluster ben distinti; lo stesso score plot mostra inoltre che mentre all'interno del gruppo dei formaggi FS non ci sia alcuna distinzione degli oggetti in funzione delle diverse integrazioni di lino, nel cluster relativo ai formaggi FC, la distinzione dei campioni lungo la prima componente è ben evidente.

CONSIDERAZIONI E CONCLUSIONI

L'integrazione con lino estruso nella dieta degli animali ha determinato differenze nel latte dal punto di vista aromatico, apprezzabili sia con il test triangolare sia con il naso elettronico. Quest'ultimo ha inoltre permesso di evidenziare una certa proporzione tra integrazione di lino e differenze di aroma nel latte (Figura 1 e Tabella 2). Le stesse rilevazioni fatte sui formaggi hanno invece mostrato l'influenza della tecnologia di produzione sulle differenze di aroma. Infatti, se tali differenze erano ancora apprezzabili nei formaggi a latte crudo (FC-CTRL, FC-LE10, FC-LE20), in quelli con latte termizzato addizionato con colture starter (FS-CTRL, FS-LE10, FS-LE20) è stato possibile verificare una standardizzazione dell'aroma (Figura 2 e Tabella 2). La formazione del profilo aromatico di un formaggio è un processo molto complesso in cui la flora microbica gioca un ruolo fondamentale. Molteplici sono infatti le reazioni biochimiche operate dai microrganismi che portano al rilascio di composti respon-

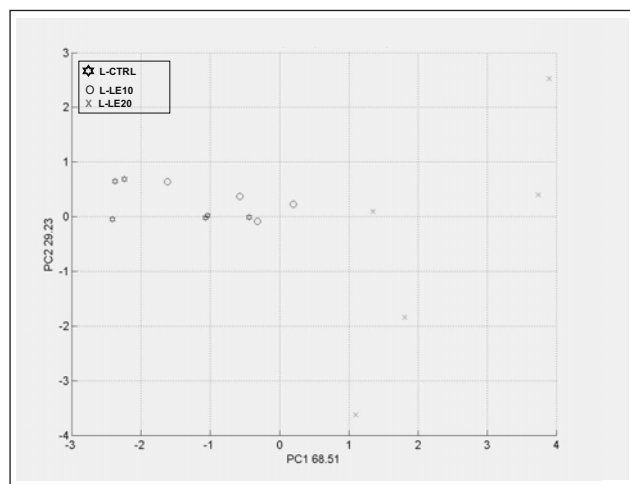


Figura 1. Score plot del modello PCA dei campioni di latte L-CTRL, L-LE10, L-LE20

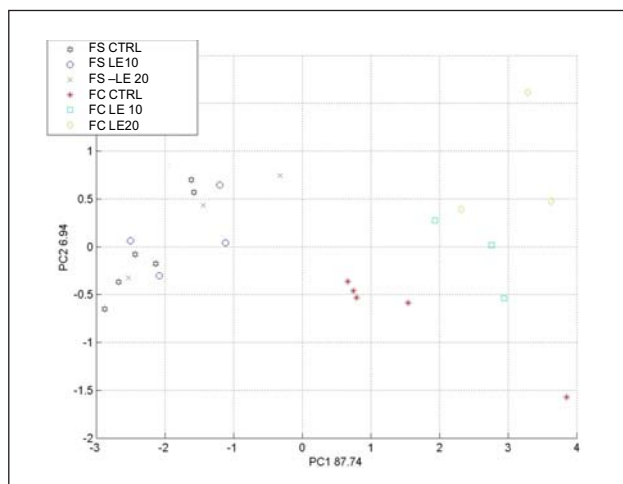


Figura 2. Score plot del modello PCA dei campioni di formaggio termizzato con starter (FS): FS-CTRL, FS-LE10, FS-LE20 e formaggio a latte crudo (FC): FC-CTRL, FC-LE10, FC-LE20

sabili dell'aroma (10, 11) e soprattutto alcuni batteri lattici sono in grado di modulare in maniera marcata il profilo aromatico di un prodotto fermentato (9, 10, 11, 12). Nel nostro caso la presenza di colture starter nella formaggio prodotto con latte termizzato (*Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei*, *Streptococcus thermophilus*) ha determinato un aroma del formaggio a fine stagionatura nettamente diverso da quello del formaggio prodotto con latte crudo e indipendente dall'integrazione di lino nella dieta degli animali. Gli esami batteriologici hanno infatti evidenziato, nei formaggi FS, una predominanza di batteri lattici rispetto alla flora

contaminante (enterobatteri e enterococchi) a differenza dei formaggi FC dove tale flora è rimasta agli stessi livelli di quella lattica autoctona. La presenza di stafilococchi coagulasi positivi in L-LE20 imputabile ad infezioni mammarie di alcune pecore del gruppo, ha determinato la successiva presenza degli stessi germi nei formaggi (FC-LE20 e FS-LE20) da esso derivati. Tuttavia tale presenza non ha influenzato le caratteristiche aromatiche del prodotto, in ragione anche dei bassi livelli di contaminazione riscontrati rispetto alla restante flora. La sperimentazione condotta ha permesso di verificare che adeguati interventi sulla tecnologia di caseificazione

Tabella 2. Risultati del test Triangolare e Test di preferenza di latte e formaggi (significativi per $\alpha = 0,05$)
 $\alpha < 0,05 = *$; $\alpha < 0,01 = **$; $\alpha < 0,001 = ***$; ns= non significativo

Test triangolare	Test triangolare significatività	Test di preferenza	Test preferenza significatività
L-CTRL Vs L-LE10	**	L-CTRL Vs L-LE10	L-CTRL *
L-CTRL Vs L-LE20	***	L-CTRL Vs L-LE20	L-CTRL ***
L-LE10 Vs L-LE 20	*	L-LE10 Vs L-LE 20	L-LE10 *
FS-CTRL Vs FS-LE10	ns	FS-CTRL Vs FS-LE10	ns
FS-CTRL Vs FS-LE20	ns	FS-CTRL Vs FS-LE20	ns
FS-LE10 Vs FS-LE20	ns	FS-LE10 Vs FS-LE20	ns
FC-CTRL Vs FC-LE10	**	FC-CTRL Vs FC-LE10	FC-CTRL*
FC-CTRL Vs FC-LE20	***	FC-CTRL Vs FC-LE20	FC-CTRL*
FC-LE10 Vs FC-LE20	**	FC-LE10 Vs FC-LE20	FC-LE10*

possono consentire di eliminare nel formaggio gli effetti (off flavour) causati dall'aggiunta di lino estruso nella dieta degli animali pur mantenendo le positive caratteristiche nutrizionali costituite dalla presenza di *CLA* o di acidi grassi della serie omega-3. La possibilità di controllare la tecnologia di trasformazione del formaggio nel modulare gli aromi, di comprenderne il ruolo nella definizione di un profilo sensoriale e di creare al tempo stesso un alimento funzionale, rappresenta un ambizioso traguardo per la comunità scientifica e un interessante innovazione per l'industria alimentare.

La presente ricerca fa parte di un progetto più ampio riguardante la messa a punto di interventi finalizzati a migliorare le caratteristiche compositive del latte e formaggio ovino dal punto di vista nutracetico (implementando la presenza di *CLA* o di acidi grassi della serie omega-3 nei prodotti lattiero-caseari) attraverso la somministrazione agli animali di diete integrate da livelli appropriati di oleaginose come il lino.

BIBLIOGRAFIA

- 1) Carta, G., Murru E., Cordeddu, L., Giordano, E., Banni S. (2008). Recenti scoperte sulle proprietà nutrizionali dei prodotti ovini e caprini: una nuova classe di cibi funzionali? *Large Animal Review*, 4: 6-7.
- 2) Khanal, R.C., Olson, J.C (2004). Factors Affecting Conjugated Linoleic Acid (CLA) content in milk, meat and egg: A Review. *Pakistan Journal of Nutrition* 3 (2): 82-98.
- 3) Allred, S.L., Dhiman, T.R., Brennand, C.P., Khanal, R.C. McMahon, D.J., Luchini, N.D. (2006). Milk and cheese from cows fed calcium salts of palm and fish oil alone or in combination with soybean products. *J. Dairy Sci.* 89:234–248
- 4) Ip C., Scimeca, J.A., Thomson, H.J.(1994). Conjugated linoleic acid: a powerful anticarcinogen from animal fat sources. *Cancer*, 74: 1050-1054.
- 5) Mughetti, L., Maurizi, A. Mammoli, R., Branciarri, R., Antonini, C., Acuti, G., Miraglia, D., Ranucci, D., Trabalza Marinucci, M. (2008). Mangimi integrati con lino estruso: effetti sul profilo lipidico di latte e formaggio ovino, *Large Animal Review*, 4, 210.
- 6) Chilliars, Y., Ferlay, A. (2004). Dietary lipids and forages interactions on cow and goat milk fatty acid composition and sensory properties. *Reprod. Nutr. Dev.* 44 (2004) 467–492.
- 7) Bailoni, L., Battaglini, L.M., Gasperi, F., Mantovani, R., Biasioli, F., Mimosi, A. (2005). Qualità del latte e del formaggio d'alpe, caratteristiche sensoriali, tracciabilità e attese del consumatore. *Quaderni SOZOOALP*, 2, 52-88.
- 8) Roessler, E. B., Pangborn, R. M., Sidel, J. L., Stone, H. (1978). Expanded statistical tables for estimating significance in paired-preference, paired difference, duo-trio and triangle tests. *J. Food. Sci.* 43:940-943.
- 9) Lynch, C.M., McSweeney, P.L.H., Fox, P.F., Cogan, T.M., Drinan, F. D. (1996). Manufacture of Cheddar cheese with and without adjunct lactobacilli under controlled microbiological conditions. *International Dairy Journal*, 6, 851–867.
- 10) Marilley, L, Ampuero, S., Zesigerb, T., Casey, M.G. (2004) Screening of aroma-producing lactic acid bacteria with an electronic nose. *International Dairy Journal* 14 (2004) 849–856
- 11) Khalid, N. M., Marth, E.H. (1990) Lactobacilli - Their Enzymes and Role in Ripening and Spoilage of Cheese: A Review. *J. Dairy Sci* 73:2669-2684
- 12) Gomez, M.J., Rodriguez, E., Gaya, P., Nunez, M., Medina, M. (1999). Characteristics of Manchego cheese manufactured from raw and pasteurized ovine milk and with defined-strain or commercial mixed-strain starter cultures. *J. Dairy Sci*, 82, 2300-2307.