

STAGIONATURA E QUALITÀ REOLOGICA DI FORMAGGIO ASIAGO PRODOTTO IN MONTAGNA

Segato S.¹, Balzan S.², Marchesini G.¹, Tenti S.¹, Serva L.¹, Mirisola M.¹, Garbin E.¹, Zoroaster A.¹, De Nardi R.¹, Novelli E.²

¹ DIP. MEDICINA ANIMALE, PRODUZIONI E SALUTE - Università di Padova

² DIP. BIOMEDICINA COMPARATA E ALIMENTAZIONE - Università di Padova

Riassunto

Campioni di formaggio Asiago d'allevio (n = 90) sono stati indagati in funzione della durata della stagionatura (6, 12 e 18 mesi) e del sistema di alimentazione delle bovine lattifere (stalla vs alpeggio). Si sono analizzate caratteristiche chimico-fisiche, composizione centesimale, colore (L*, a* e b*) e tenerezza. La stagionatura ha influenzato in modo significativo le caratteristiche compositive e reologiche del formaggio. I maggiori cambiamenti si hanno tra i 6 e i 12 mesi, a seguito di una concentrazione dei macro-costituenti e una riduzione di L*. Oltre tale epoca di maturazione, e fino ai 18 mesi, prosegue il calo dell'umidità e si ha una variazione della consistenza con un aumento della durezza a fronte di una perdita di elasticità, associata a una maggiore friabilità. Nei formaggi di 18 mesi si osserva un aumento di L* e b* se comparato ai valori registrati dopo 12 mesi di stagionatura. Il sistema di alimentazione delle lattifere influenza composizione centesimale e caratteristiche reologiche, favorendo l'ottenimento di formaggi di minor consistenza e con più elevati valori di a* e b* in alpeggio. Poiché l'avvicendamento alimentare coincide con il cambio di stagione (stalla/maggio vs alpeggio/luglio), la diversa qualità dei formaggi è riconducibile anche alla variabilità climatico-ambientale e alla biodiversità delle flore microbiche.

Abstract

Ripening and rheological quality of mountain Asiago cheese – Samples of Asiago d'allevio cheese (n = 90) have been investigated to verify the effect of ripening period (6 vs. 12 vs. 18 months) and feeding system of dairy cows (barn vs. alpine grazing) on quality traits. The proximate composition, chemical composition, colour and tenderness were analysed. The aging significantly affects composition and rheological traits of the cheese. The major changes have been seen between 6 and 12 months, and were represented by a concentration of macronutrients and a reduction of brightness. Between 12 and 18 months, the drop of moisture persists and variation of consistency, with an increase in the hardness a loss in elasticity associated with greater friability. In 18 mo.-cheese there was an increase of L and b* if compared to 12 mo.-cheese. The feeding system affects proximate composition and rheological traits favouring a minor consistency and an increase of a* and b* in alpine grazing-cheese. Since the turnover of the feeding systems coincided also with the change of season (barn/May vs. alpine grazing/July), the effect on quality traits of cheese it was also due to environmental and climatic variability and to the biodiversity of microflora.*

Introduzione

La stagionatura è un complesso processo chimico-fisico caratterizzato da vari cambiamenti dei costituenti della cagliata che influenzano colore, tessitura (*texture*) e aroma del formaggio. L'attività degli enzimi di latte e caglio e di quelli liberati dalle flore microbiche (non starter e starter)

determina la progressiva idrolisi della frazione proteica e lipidica con formazione di composti responsabili dell'aroma e del gusto del prodotto (Lignitto *et al.*, 2010; Bernardini *et al.*, 2010). Le trasformazioni biochimiche di proteine e acidi grassi causano anche delle variazioni di colore e tessitura (Pinho *et al.*, 2004; Ottavian *et al.*, 2012). Il colore condiziona il grado di apprezzamento del formaggio, essendo associato ad altre caratteristiche organolettiche quali sapore, odore e consistenza (Cozzi *et al.*, 2006). L'obiettivo dello studio è stato quello di valutare gli effetti stagionatura (6, 12 e 18 mesi) e sistema di alimentazione delle lattifere (stalla vs alpeggio) sulla qualità reologica dell'Asiago d'allevato prodotto in ambiente montano.

Materiale e metodi

Il latte di massa per la caseificazione è stato ottenuto in (4) aziende ubicate nell'altopiano dei Sette Comuni (>1000 m slm) in tre periodi sperimentali corrispondenti ad altrettanti sistemi di alimentazione delle bovine: maggio (stalla, dieta a secco), luglio (alpeggio iniziale) e settembre (alpeggio avanzato). L'Asiago d'allevato è stato prodotto secondo il relativo disciplinare presso un locale caseificio (Lignitto *et al.*, 2010). Sono state analizzate 90 forme, suddivise in 3 epoche di stagionatura (6, 12 e 18 mesi), prelevando porzioni (fette) rappresentative della forma privata di crosta e sotto-crosta. Composizione centesimale e tenore in sale (NaCl) sono state determinate con metodiche AOAC (2003). L'indice di proteolisi è stato calcolato come N non proteico (NPN) su N totale. Si sono rilevati attività dell'acqua (a_w) con igrometro Aqualab CX-2 (Decagon, USA) e pH dopo omogeneizzazione in acqua distillata. Il colore (CIE $L^*a^*b^*$) è stato misurato dopo esposizione all'aria (1 ora, 2 ± 2 °C) con spettrocolorimetro (CM-500, Konica-Minolta), settato su illuminante D65. La consistenza è stata valutata su quadratini (5x5 cm) di 1 cm di spessore impiegando un TA-HDi *texture analyzer* (Stable Micro Systems, UK) con velocità di taglio di $2 \text{ mm}\cdot\text{s}^{-1}$; i risultati sono stati espressi in termini di massimo sforzo di taglio (Maximum Shear Force, MSF) e lavoro di taglio (Working Shear Force, WSF). I dati sono stati sottoposti ad analisi statistica (SAS, 2010) secondo un modello lineare bifattoriale che ha considerato gli effetti fissi stagionatura (S, 3 livelli: 6, 12 e 18 mesi) e sistema di alimentazione (A, 3 livelli: stalla/maggio, alpeggio/luglio, alpeggio/settembre), la loro interazione, nonché il peso della forma intera come covariata. I gradi di libertà di A sono stati utilizzati per due contrasti ortogonali mentre per i livelli di S si è eseguito un confronto multiplo (PDIFF Bonferroni-*adj*).

Risultati e discussione

La stagionatura favorisce un progressivo cambiamento delle caratteristiche chimico-fisiche del formaggio (Tabella 1). La progressiva perdita di acqua comporta un aumento della sostanza secca con concentrazione dei macro-costituenti (proteine, grasso e ceneri), soprattutto nei formaggi a 18 mesi. Il contenuto di sale non varia in modo significativo in funzione della stagionatura; ciò potrebbe essere dovuto ad un arresto della diffusione dello stesso che, ad esempio, per il Parmigiano Reggiano avviene a 10 mesi di stagionatura (de Angelis Curtis *et al.*, 2000).

Tabella 1 – Effetto stagionatura (mesi) e covariata (b) peso forma su caratteristiche chimico-fisiche, composizione centesimale, tessitura e colore in formaggio Asiago d'allevato

	Stagionatura			b	DSR	P
	6	12	18			
a _w	0.93 ^A	0.90 ^B	0.90 ^B	0.004	0.02	**
pH	5.80 ^α	5.69 ^β	5.78 ^α	0.085	0.10	†
Sostanza secca, %	67.9 ^C	71.2 ^B	73.3 ^A	-0.557	0.3	**
Lipidi, % t.q.	28.9 ^B	31.0 ^B	32.3 ^A	-0.146	0.5	**
Proteina grezza, % t.q.	29.7 ^c	31.4 ^b	31.9 ^a	-0.386	0.3	*
Ceneri, % t.q.	4.6 ^c	4.9 ^b	5.3 ^a	-0.108	0.2	*
NaCl, % t.q.	1.9	1.9	2.1	-0.048	0.1	ns
Ind. proteolisi (NPN/N _{totale})	24.1 ^c	28.6 ^b	31.6 ^a	-0.173	1.9	*
Massimo sforzo taglio, N	11.9 ^b	12.0 ^b	27.4 ^a	-0.847	1.0	*
Lavoro taglio, N.mm	27.3 ^B	19.2 ^B	42.5 ^A	0.670	3.5	**
Luminosità, L*	66.0 ^A	52.6 ^C	59.0 ^B	0.216	0.7	**
Indice del rosso, a*	-0.7 ^A	-1.2 ^B	-1.3 ^B	0.102	0.2	**
Indice del giallo, b*	13.9 ^A	9.1 ^C	11.0 ^B	0.413	0.7	**
Croma, C*	13.9 ^A	9.3 ^C	11.2 ^B	0.399	0.7	**
Tinta, h	94.3 ^B	86.5 ^C	99.2 ^A	-0.792	1.0	**

a_w: water activity; b: coefficiente regressione della covariata peso; DSR: deviazione standard residua; ns: non significativo. † (α, β): P<0.10; * (a, b, c): P<0.05; ** (A, B, C): P<0.01.

L'a_w cala con il progredire della stagionatura a causa della perdita per migrazione-evaporazione, dell'azione del sale, quale principale agente legante l'acqua e per la formazione di peptidi, derivanti dalla proteolisi, che abbassano la quantità di acqua libera (Lignitto *et al.*, 2012). Pur senza un aumento della concentrazione del sale, nel corso della stagionatura si ha una eterogenea distribuzione dello stesso all'interno della massa di formaggio, contribuendo al "sequestro" dell'acqua. Il pH è risultato

tendenzialmente ($P < 0.10$) inferiore a 12 mesi, causa la formazione di composti acidi (lattato) ad opera della flora microbica, per innalzarsi nuovamente a 18 mesi per la concomitante azione tampone di vari composti basici, solubilizzazione del fosfato inorganico e degradazione del lattato (Del Nobile *et al.*, 2007). I valori di a_w e pH aumentano tendenzialmente dall'esterno (crosta) verso l'interno del formaggio (dati non tabulati per brevità). Elevati livelli di a_w nelle porzioni più profonde sono probabilmente conseguenza del fenomeno fisico per cui, nel corso della stagionatura, l'acqua migra verso l'esterno della forma ove tende ad evaporare. Tali variabili sono inoltre condizionate dal peso (dimensioni) della forma; a_w e pH aumentano all'aumentare della massa del formaggio, verosimilmente per una maggiore presenza di acqua in quelle di maggiori dimensioni. Lo stesso fenomeno può spiegare il valore negativo di b (coefficiente di regressione della covariata) per sostanza secca, ceneri e proteina grezza: vi è una diminuzione del loro tenore all'aumentare del peso della forma (tabella 1). Come atteso, con l'avanzare della stagionatura vi è una continua proteolisi dovuta all'attività residuale degli enzimi di latte e caglio, ma soprattutto di quelli di origine microbica (Lignitto *et al.*, 2010).

L'avvicendamento del sistema di alimentazione delle lattifere (da stalla ad alpeggio) influisce significativamente sulla composizione centesimale del formaggio (Tabella 2); differenze attribuibili anche al cambio di stabulazione e stagione (variabilità climatico-ambientale) e al progredire dello stadio di lattazione (Cozzi *et al.*, 2009; Marchesini *et al.*, 2009). A fine lattazione il latte è più ricco in grasso e cellule somatiche le quali verosimilmente sono responsabili della più intensa proteolisi nei formaggi di settembre (Tamagnini *et al.*, 2006; Hickey *et al.*, 2006; Nguyen Thi *et al.*, 2014).

La forza massima (tabella 1 e figura 1) necessaria per rompere una sezione di formaggio dell'altezza di 1 cm aumenta progressivamente con la stagionatura, mentre il lavoro diminuisce a 12 mesi per aumentare nuovamente a 18 mesi (tabella 1). In confronto ai 18 mesi, a 6 e 12 la forza massima risulta significativamente minore ma il lavoro perdura nel tempo, in quanto la maggiore elasticità che caratterizza i formaggi prolunga lo sforzo di taglio. In formaggi di 18 mesi è invece necessario applicare un maggiore sforzo a fronte di una perdita di elasticità, come indica la ridotta area sottesa alla curva di lavoro (Figura 1).

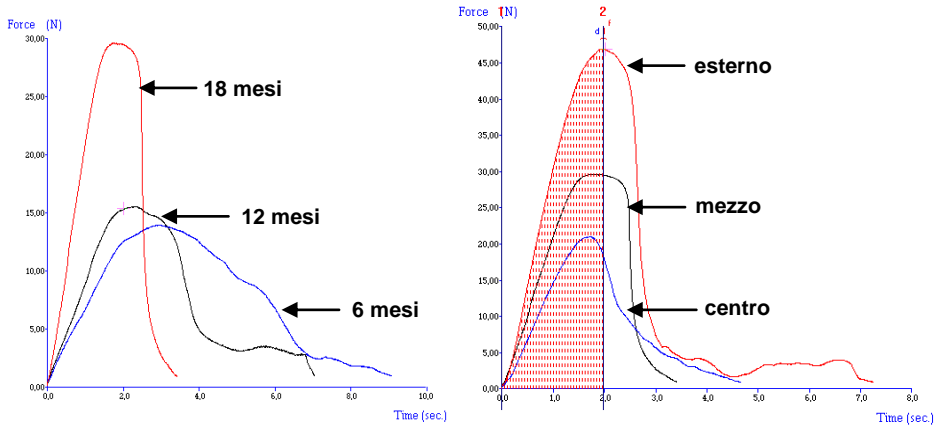


Figura 1. Diagramma dello sforzo di taglio in funzione di stagionatura (6, 12 e 18 mesi) e punto di *reperè* (esterno-crosta, mezzo e centro) in Asiago d'allevato

Per incrementi del tenore proteico, la durezza del formaggio aumenta, al contrario mentre un incremento dell'acqua e del grasso (per riduzione del volume della matrice caseinica) la diminuiscono. Elevate concentrazioni di sale determinano un restringimento della matrice con aumento della consistenza, ma i processi proteolitici possono indebolire la matrice proteica attenuandone la resistenza. La presenza di lipidi può fungere da lubrificante della superficie di frattura della matrice caseinica riducendo la resistenza alla frattura e alla compressione. Per quanto riguarda il colore, i formaggi a 6 mesi di stagionatura sono caratterizzati da maggiore luminosità (L^*), indice del giallo (b^*) e croma (C^*), coordinate colorimetriche che a 12 mesi calano in modo significativo raggiungendo i loro valori minimi; nei formaggi a 18 mesi si registrano invece valori intermedi (tabella 1). Una tendenza inversa si registra per la tinta (h). L'indice del rosso (a^*) tende, con la stagionatura, a diventare progressivamente più negativo (blu) senza una sensibile differenza tra 12 e 18 mesi. Il cambio di sistema di alimentazione (da stalla ad alpeggio) determina un calo di L^* e h , associato ad un progressivo aumento di a^* (Tabella 2).

Tabella 2 – Effetto sistema di alimentazione su caratteristiche chimico-fisiche, composizione centesimale, tessitura e colore in Asiago d'allevio

	Sistema alimentazione			Contrasti ortogonali	
	Sm	Pl	Ps	Sm vs (Pl+Ps)	Pl vs Ps
a _w	0.90	0.91	0.92	***	***
pH	5.81	5.69	5.76	ns	ns
Sostanza secca, %	71.2	70.1	71.2	*	***
Lipidi, % t.q.	31.6	30.3	30.4	**	ns
Proteina grezza, % t.q.	30.6	31.0	31.4	**	**
Ceneri, % t.q.	4.9	5.0	4.9	ns	ns
NaCl, % t.q.	2.0	2.0	1.9	ns	ns
Ind. proteolisi (NPN/N _{totale})	27.9	26.8	29.5	ns	***
Massimo sforzo taglio, N	20.6	17.6	13.1	***	***
Lavoro taglio, N.mm	33.1	32.7	23.2	ns	**
Luminosità, L*	63.5	61.6	52.4	***	***
Indice del rosso, a*	-1.9	-0.8	-0.6	***	***
Indice del giallo, b*	8.9	12.8	12.2	***	ns
Croma, C*	9.3	12.9	12.3	***	ns
Tinta, h	104.8	94.4	80.8	***	***

a_w: water activity; Sm: stalla/maggio; Pl: alpeggio/luglio; Ps: alpeggio/settembre; ns: non significativo; *: P<0.05; **: P<0.01; ***: P<0.001.

Per quanto riguarda b*, i formaggi di alpeggio si caratterizzano per valori maggiori rispetto a quelli di stalla, mentre non vi è una significativa differenza tra inizio e fine monticazione. Il giallo dei formaggi è determinato principalmente dai carotenoidi presenti soprattutto nel foraggio fresco ingerito dalle bovine. Il trasferimento metabolico dei carotenoidi dalla dieta al latte è condizionato dalla quantità assoluta ingerita, nonché da razza, ordine di parto, fase di lattazione (Debier *et al.*, 2005; Egger *et al.*, 2007; Segato *et al.*, 2007a) e variazioni stagionali nel contenuto di carotenoidi nel foraggio fresco. La trasformazione casearia e successiva stagionatura non sembrano causare perdite di carotenoidi (Novelli *et al.*, 2006). Uno studio (Carpino *et al.*, 2004) sulla stagionatura del formaggio *Ragusano* da latte di bovine alimentate con dieta *unifeed* o al pascolo non ha evidenziato differenze significative di L* ma, analogamente ai dati riscontrati in una simile prova sperimentale su formaggio Asiago (Segato *et al.*, 2007b), b* è risultato maggiore nella tesi pascolo. Secondo alcuni Autori (Jones *et al.*, 2005), con l'avanzare della stagionatura si verifica un progressivo aumento di L*, probabilmente per l'idrolisi di alcuni pigmenti con conseguente aumento della riflessione della luce (Saldo *et al.*, 2002). L* sembra essere

correlato anche con il contenuto di sale e, in particolare con la sua distribuzione nella massa del formaggio; inoltre, un elevato L* può essere associato a un rigonfiamento della struttura stante la maggiore presenza di acqua soprattutto nelle fasi iniziali della stagionatura.

Conclusioni

La stagionatura influenza in modo significativo le caratteristiche compositive e reologiche dell'Asiago d'allevato. I maggiori cambiamenti si hanno tra i 6 e i 12 mesi, a seguito di una concentrazione dei macrocostituenti e una drastica riduzione della luminosità. Dai 12 mesi fino ai 18 mesi, prosegue un calo di umidità e si ha un notevole variazione della consistenza, perdita di elasticità e aumento della durezza associato a una maggiore friabilità della pasta. L* e b* evidenziano i valori maggiori a 6 e 18 mesi con minimi a 12 mesi. La composizione centesimale e reologica risulta essere influenzata dal sistema di alimentazione delle bovine, favorendo l'ottenimento di formaggi di minor consistenza e più carichi di a* e b* in alpeggio rispetto alla stalla. Tali cambiamenti sono tuttavia riconducibili anche alla variabilità climatico-ambientale, nonché alla biodiversità delle flore microbiche che muta all'avvicinarsi del sistema di alimentazione.

Ringraziamenti – Ricerca finanziata dalla FONDAZIONE CARIVERONA - call 2004, progetto VALAMAL.

Bibliografia

- AOAC, 2003. Official Methods of Analysis. 17th ed., AOAC, Washington, DC.
- Bernardini D., Gerardi G., Elia C.A., Marchesini G., Tenti S., Segato S., 2010. *Relationship between milk fatty acid composition and dietary roughage source in dairy cow*. Veterinary Research Communications, 34(Suppl 1): 135-138.
- Carpino S., Mallia S., La Terra S., Melilli C., Licita G., Acree T.T., Barbano D.M., Van Soest P.J., 2004. *Composition and aroma compounds of Ragusano cheese: native pasture and total mixed ration*. Journal of Dairy Science, 87: 816-830.
- Cozzi G., Bizzotto M., Rigoni Stern G., 2006. *Uso del territorio, impatto ambientale, benessere degli animali e sostenibilità economica dei sistemi di allevamento della vacca da latte presenti in montagna. Il caso studi dell'Altopiano di Asiago*. Quaderno SOZOOALP n° 3: 7-25.
- Cozzi G., Ferlito J., Pasini G., Contiero B., Gottardo F., 2009. *Application of near-infrared spectroscopy as an alternative to chemical and color analysis to discriminate the production chains of Asiago d'Allevato cheese*. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 57: 11449-11454.
- de Angelis Curtis S., Curini R., Delfini M., Brosio E., D'Ascenzo F., Bocca B., 2000. *Amino acid profile in the ripening of Grana Padano cheese: a NMR study*. Food Chemistry, 71: 495-502.
- Debier C., Pottier J., Goffe C., La Rondelle Y., 2005. *Present knowledge and unexpected behaviours of vitamins A and E in colostrum and milk*. Livestock Production Science, 98: 135-147.

- Del Nobile M.A., Chillo S., Falcone P.M., Laverse J., Pati S., Baiano, A., 2007. *Textural changes of Canestrello Pugliese cheese measured during storage*. Journal of Food Engineering, 83: 621–628
- Egger P., Holzer G., Segato S., Werth E., Schwienbacher F., Peratoner G., Andrighetto I., Kasal A. (2007) *Effect of oilseed supplements on milk production and quality in dairy cows fed a hay-based diet*. Italian Journal of Animal Science, Vol. 6: 395-405.
- Hickey D.K., Kilcawley K.N., Beresford T.P., Sheehan E.M., Wilkinson, M.G., 2006. *The influence of a seasonal milk supply on the biochemical and sensory properties of Cheddar cheese*. International Dairy Journal, 16: 679–690.
- Jones S.T., Aryana K.J., Losso J.N., 2005. *Storage stability of lutein during ripening of Cheddar Cheese*. Journal Dairy Science, 88: 1661-1670.
- Lignitto L., Cavatorta V., Balzan S., Gabai, G., Galaverna G., Novelli E., Sforza S., Segato S., 2010. *Angiotensin-converting enzyme inhibitory activity of water-soluble extracts of Asiago d'allevo cheese*. International Dairy Journal, 20(1): 11-17.
- Lignitto L., Segato S., Balzan S., Cavatorta V., Ouhahal N., Sforza S., Degraeve P., Galaverna G., Novelli E., 2012. *Preliminary investigation on the presence of peptides inhibiting the growth of Listeria innocua and Listeria monocytogenes in Asiago d'Allevo cheese*. Dairy Science and Technology, 92: 297-308.
- Marchesini G., Andrighetto I., Stefani A.L., Berzaghi P., Tenti S., Segato S., 2009. *Effect of unsaturated fatty acid supplementation on performance and milk fatty acid profile in dairy cows fed a high fibre diet*. Italian Journal of Animal Science, 8: 391-403.
- Nguyen Thi P., Dupas C., Adt I., Degraeve P., Ragon M., Missaoui M.-F., Novelli E., Segato S., Phan The D., Ouhahal N., 2014. *Partial characterization of peptides inhibiting Listeria growth in two Alpine cheeses*. Dairy Science and Technology, 94 (issue 1): 61-72.
- Novelli E., Elia C.A., Lignitto L., Granata A., Segato S., Tutta C., Ronzani G., Balzan S., 2006. *Contenuto di vitamine liposolubili e colesterolo del formaggio Asiago d'Allevo mezzano*. Atti XVII Congresso Nazionale Associazione Italiana di Dietetica e Nutrizione Clinica, 169-170.
- Ottavian M., Facco P., Barolo M., Berzaghi P., Segato S., Novelli E., Balzan S., 2012. *Near-infrared spectroscopy to assist authentication and labeling of Asiago d'allevo cheese*. Journal of Food Engineering, 113 (2): 289-298.
- Pinho O., Mendes E., Alves M.M., Ferreira I.M.P.L.V.O., 2004. *Chemical, Physical, and Sensorial Characteristics of "Terrincho" Ewe Cheese: Changes During Ripening and Intravarietal Comparison*. Journal of Dairy Science, 87: 249–257.
- Saldo J., Sendra B., Guamis B., 2002. *Colour changes during ripening of high pressure treated hard caprine cheese*. High Pressure Research, 22: 659–663.
- SAS 2010. User's Guide: Release 9.2. SAS Institute Inc., Cary, North Carolina (USA).
- Segato S., Balzan S., Elia C.A., Granata A., Lignitto L., Tenti s., Andrighetto I., Novelli E., 2007a. *Alpine farm scale investigations of the relationships between productive system and quality of dairy products*. Agricultural Scientific and Professional Review, 13(1): 184-187.
- Segato S., Balzan S., Elia C.A., Lignitto L., Granata A., Magro L., Contiero B., Andrighetto I., Novelli E., 2007b. *Effect of period of milk production and ripening on quality traits of Asiago cheese*. Italian Journal of Animal Science, 6 (Suppl. 1): 469-471.
- Tamagnini L.M., de Sousa G.B., Gonzalez R.D., Budde C.E., 2006. *Microbiological characteristics of Crottin goat cheese made in different seasons*. Small Ruminant Research, 66: 175–180.