



UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI URBINO CARLO BO

Dipartimento: Scienze Pure e Applicate

Dottorato di Ricerca in Scienze della Terra, Scienza della Complessità

Ciclo XXVIII

**GEOLOGIA E FORMAGGIO DI FOSSA TRA ROMAGNA E MARCHE:
caratteristiche geologiche e qualità organolettiche**

SSD: GEO/2 – AGR/15

Relatore:

Chiar.mo Prof. Rodolfo Coccioni

Correlatore:

Dott. Mario Sprovieri

Dottorando:

Dott. Luigi Giaramita

Anno accademico: 2014 – 2015

INDICE

1	Abstract	1
2	Riassunto	2
3	Introduzione	3
3.1	Il Paesaggio	3
3.2	Geologia dell'area	4
3.3	Litologia	5
3.4	Le Fosse: cenni storici, origini e caratteristiche.....	6
3.5	Geologia delle fosse	7
3.6	Le origini del formaggio: definizione e cenni storici.....	8
3.7	Classificazione dei formaggi.....	9
3.8	Composizione nutrizionale.....	10
3.9	Processo produttivo.....	11
3.10	Formaggi tradizionali della regione Marche ed Emilia Romagna	18
3.11	Formaggio di Fossa	18
3.12	Fasi di produzione del Formaggio di Fossa	19
3.13	Relazione tra l'ambiente di produzione e il prodotto.....	21
3.14	Caratteristiche del prodotto	22
3.15	Originalità e tracciabilità del prodotto	23
4	Obiettivo della Tesi	25
5	Materiali e metodi	26
5.1	Analisi Macro e Microscopica della roccia.....	30
5.2	Determinazione del pH della Roccia.....	30
5.3	Determinazione dell'umidità totale della roccia	31
5.4	Determinazione del Coefficiente di imbibizione	32
5.5	Analisi mineralogiche	32
5.6	Determinazione dell'umidità totale della paglia	33
5.7	Monitoraggio in continuo par la caratterizzazione del microclima delle fosse.....	34
5.8	Analisi chimiche e chimico-fisiche su campioni di latte e formaggio	35
5.8.1	Determinazione del contenuto di acqua, ceneri e pH.....	35
5.8.2	Determinazione delle proteine totali	36

5.8.3	Determinazione del cloruro.....	37
5.8.4	Estrazione dei lipidi totali dal latte.....	37
5.8.5	Estrazione dei lipidi totali dal formaggio.....	38
5.8.6	Analisi degli acidi grassi dell'estere metile	39
5.9	Analisi microbiologiche	40
5.10	Determinazione del profilo delle molecole volatili.....	41
5.11	Analisi statistiche	42
6	Risultati e discussioni.....	42
6.1	Analisi Macro e Microscopica della roccia.....	43
6.2	pH roccia, latte e formaggio.....	44
6.3	Contenuto d'acqua nella roccia, paglia, latte e formaggi.....	45
6.4	Proprietà di imbibizione della roccia	47
6.5	Analisi mineralogiche	47
6.6	Microclima delle fosse	49
6.7	Caratteristiche chimico-fisiche latte e formaggio	53
6.8	Caratteristiche microbiologiche	56
6.9	Composti volatili.....	58
7	Confronto tra il formaggio Pecorino Romano e il Formaggio di Fossa di Talamello e Cartoceto	66
8	Conclusioni	68
	Ringraziamenti	71
	Bibliografia	72

1 Abstract

“Fossa cheese” is a typical Italian product of the Montefeltro area located between Marche and Emilia-Romagna regions. It is different from other cheeses because of its particular phase of maturation, the “infossamento”, that links the cheese to the “Malatestiane” lands of which it is original.

In fact, in this area it is possible to find the typical truncated-cone pits, dug in sandstone rock where, by the XIV century, the people keep food inside in order to save it from the cold winter and from invaders.

The present study aims to analyze the relationship between the geological features of two selected pits (*Fossa Talamello* - Emilia Romagna, *Fossa Cartoceto* - Marche) and the physical-chemical, microbiological, nutritional and sensory features of the cheese ripened in these two pits, in order to evaluate whether the ripening environment influence the qualitative features of the final product.

Due to the interdisciplinarity of the study, it has been fundamental the collaboration with the “Institute of Food Sciences (ISA-CNR Avellino)”, where the characterization analysis of the cheese were performed, and the “Institute for Coastal Marine Environment (IAMC-CNR Capo Granitola)” that provided some instruments for the acquisition of microclimatic data related to the pits and performed the study and the characterization of the rocks that surround the two pits selected for the study.

In the study, cheeses made from the same milk were used. In particular, a total of 40 quintals of cheese were put in the truncated-cone pits, dug in sandstone rock: 20 quintals in the *Fossa Talamello* and 20 quintals in the *Fossa Cartoceto*.

Specific analyzes were conducted starting from milk and followed through the entire production chain up to the final product.

To estimate if the ripening environment (geology of the pits, straw that lines the walls of the pits and microclimate of the pits) influences the qualitative and organoleptic characteristics of the cheese, the microclimate of the two studied areas was monitored in real time and specific analyzes were conducted on rock samples (taken from two sites) and straw that covers the walls of both pits.

2 Riassunto

Il Formaggio di Fossa è un prodotto tipico italiano dell'area del Montefeltro, compresa tra le regioni Emilia-Romagna e Marche, si contraddistingue dagli altri formaggi per la sua particolare fase di maturazione, l'infossamento, che lo lega alle terre malatestiane da cui origina. Qui, infatti, si trovano le tipiche fosse tronco-coniche scavate nella roccia arenaria in cui, sin dal XIV secolo, gli abitanti immettevano scorte di generi alimentari di prima necessità per conservarli durante il rigido inverno e proteggerli dalle razzie degli invasori.

Il presente lavoro è volto ad analizzare le relazioni tra le caratteristiche geologiche di due fosse selezionate (*Fossa Talamello*-Emilia Romagna e *Fossa Cartoceto*-Marche) e le caratteristiche chimico-fisiche, microbiologiche, nutrizionali e sensoriali del formaggio stagionato nelle due fosse sopra citate, per valutare se esistono interazioni da parte dell'ambiente di stagionatura tali da influenzare le caratteristiche qualitative del prodotto finale.

Vista l'interdisciplinarietà dello studio, è stata fondamentale la collaborazione con l'Istituto di Scienze dell'Alimentazione (ISA-CNR di Avellino) che ha curato tutta la parte delle analisi sui formaggi e dell'Istituto per l'Ambiente Marino Costiero (IAMC-CNR di Capo Granitola) per aver messo a disposizione parte della strumentazione per l'acquisizione dei dati microclimatici delle fosse e i laboratori per lo studio e la caratterizzazione delle rocce dove le due fosse oggetto di studio sono scavate.

Per questo studio sono stati utilizzati formaggi ottenuti tutti dallo stesso latte, in particolare, sono stati infossati 40 q di formaggio, 20 q nella Fossa di Talamello e 20 q nella Fossa di Cartoceto.

Sono state condotte analisi specifiche partendo dal latte e seguendo l'intera filiera di produzione fino ad arrivare al prodotto finale.

Per valutare se l'ambiente di stagionatura, "geologia delle fosse, paglia che riveste le pareti delle fosse e microclima delle fosse", influisce sulle caratteristiche qualitative e organolettiche del formaggio sono state condotte analisi specifiche su campioni di roccia (prelevati dai due siti) e di paglia che riveste le pareti delle fosse ed è stato monitorato in tempo reale il microclima delle due fosse studiate.

3 Introduzione

3.1 Il Paesaggio

Chi passa lungo la Riviera Adriatica nel tratto compreso tra il Fiume Metauro e il Fiume Marecchia ha la fortuna di vedere, gustare e attraversare il crinale pedecollinare e collinare della dorsale appenninica tra Marche e Romagna.

Tale area è caratterizzata da un paesaggio complesso nel suo disegno geomorfologico, che, partendo dal mare attraversa rilievi dalle forme dolci e arrotondate, crinali ampi e versanti con pendenze più o meno moderate, che degradano verso i fondovalle.

In posizione normale alle strutture citate, completano il paesaggio il disegno naturale le incisioni dei fiumi, i franamenti all'interno delle aree colluviali, dove la natura del substrato è prevalentemente argillosa e i pendii a rocce madri arenacee che costituiscono la vera ossatura stabile dell'intero ambito territoriale esaminato.

Nel tratto di territorio, dorsale sinistra del Fiume Metauro e precisamente nella provincia marchigiana Pesaro-Urbino, sorge il centro abitato di Cartoceto, invece, nel tratto di territorio, dorsale sinistra del Fiume Marecchia e precisamente nella provincia romagnola Rimini, sorge il centro abitato di Talamello.

Questi due paesini che si trovano in due regioni confinanti, che distano tra loro, in linea d'aria, di circa 100 Km hanno caratteristiche geomorfologiche e geologiche simili ma ciò che li accomunano maggiormente sono: la tradizione legata alla vita dei pastori, i quali attraverso la loro attività pressoché immutabile hanno conservato in parte ancora intatta la vita pastorale legata alla raccolta del latte di pecora per produrre formaggio; il tipo di stagionatura che questo formaggio pecorino a gusto fortemente piccante, pasta soffice e fragrante subisce all'interno di fosse scavate nella roccia arenacea dando vita ad un prodotto tipico, unico nel suo gusto e nel suo sapore, il Formaggio di Fossa

3.2 Geologia dell'area

Le aree oggetto di studi ricadono nella parte esterna dell'Appennino Settentrionale ed hanno carattere collinare e di bassa montagna.

In accordo con quanto detto da (Borraccini et al., 2004) l'Appennino Settentrionale è una catena arcuata costituita da pieghe e sovrascorrimenti messi in posto, a partire dal Miocene, dalla convergenza e collisione tra i margini continentali del blocco Sardo-Corso d'origine europea ad Ovest, ed il blocco Adriatico d'affinità africana ad Est. L'impilamento d'unità tettoniche tra il Miocene e il Pleistocene inferiore sul margine continentale Adriatico (o Apulo) e la distensione di retro-arco del versante tirrenico sono state guidate dallo sprofondamento gravimetrico della litosfera adriatica e ionica e dal relativo roll-back del piano di subduzione (Malinverno & Ryan, 1986).

La zona settentrionale e centrale della catena appenninica, è caratterizzata da terreni di derivazione oceanica (Unità Ligure) che si sono tettonicamente sovrapposti ad unità di margine passivo e avanfossa (Unità Toscana-Romagnola).

Il settore Umbro-Marchigiano della catena appenninica è rappresentato da anticlinali di sovrascorrimento che coinvolgono la successione mesozoica-terziaria di margine passivo prevalentemente carbonatica (Deiana & Piali, 1994).

Anche il basamento permo-triassico sottostante è interessato da faglie inverse con superfici immergenti a SO che, nella zona esterna della catena, sollevano progressivamente il basamento stesso (Barchi et al., 1998; Coward et al., 1999; De Donatis, 2001).

Nel settore Marchigiano-Romagnolo, la successione mesozoica-paleogenica del dominio umbro-marchigiano è sepolta sotto depositi d'avanfossa d'età miocenico superiore-pliocenica, mentre l'avanfossa plio-quadernaria è collocata ad est della linea di costa, nel mare Adriatico.

In questi bacini d'avanfossa la deformazione e i depocentri sono migrati verso l'avampaese a nord-est, coinvolgendo depositi principalmente terrigeni e progressivamente più giovani (dall'Oligocene al Quaternario).

La sedimentazione continentale quaternaria, quale quella dei depositi fluviali e di versante, e le morfologie terrazzate e/o incise, indicano sollevamenti e una tettonica recente.

3.3 Litologia

I terreni affioranti nelle due aree di studio, Talamello e Cartoceto, appartengono alla successione umbro-marchigiano-romagnola e sono rappresentati nello stralcio di carta geologica dell'area compresa tra i fiumi Savio e Foglia in scala 1:50.000 (Stefano Conti, 1988) (figura 1) e nello stralcio di carta geologica regionale sezione 280030 Cartoceto in scala 1:10.000 (R.M. Pichezzi, M. Pantaloni, C. D'Ambrogio, 2002) (figura 2).

Nella prima area di studio, Talamello, affiorano i depositi del Pliocene Inferiore. Tali depositi consistono di Arenarie grigio-giallastre, moderatamente cementate, a laminazione incrociata a lisca di pesce a grana da media a grossolona appartenenti alla litofacies arenaceo-conglomeratica di Monte Perticara.

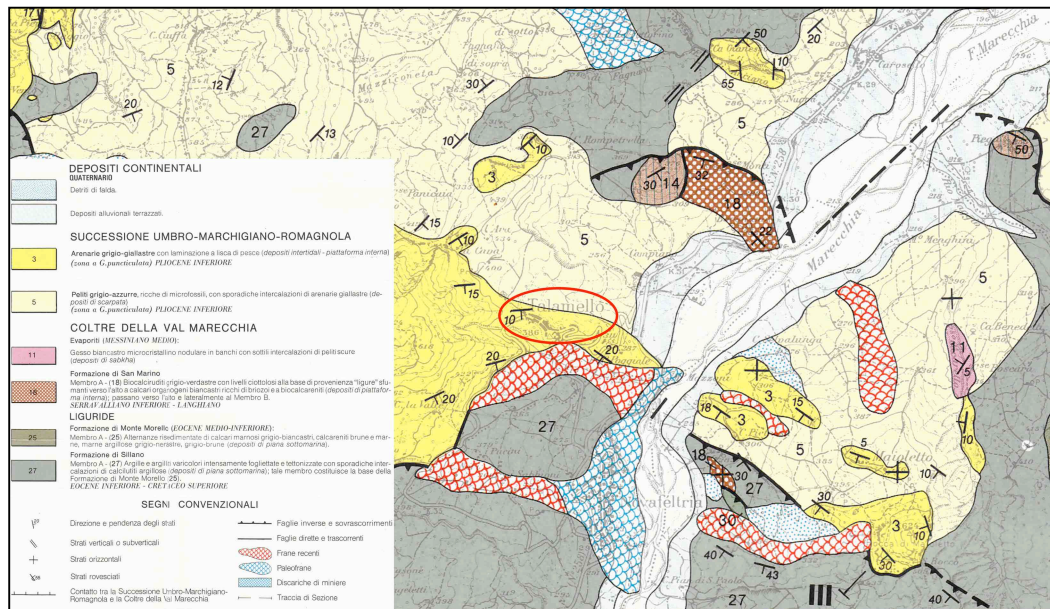


Figura 1 Stralcio carta geologica dell'area compresa tra i fiumi Savio e Foglia in scala 1:50.000 (Stefano Conti, 1988)

Nella seconda area, Cartoceto, affiorano i depositi della Formazione a Colombacci del Miocene (Messiniano superiore). Tale formazione è costituita sia da peliti di silt grigio o ocre e subordinate arenarie fini, in strati sottili, con presenza di caratteristici livelli di calcari evaporitici biancastrati ("colombacci"), sia dalla litofacies arenacea costituita da una serie di arenarie micaceo-feldspatiche, in generale poco cementate, di colore giallo-bruno o giallastre, con alternanze di sottili livelli di argille marnose grigie.

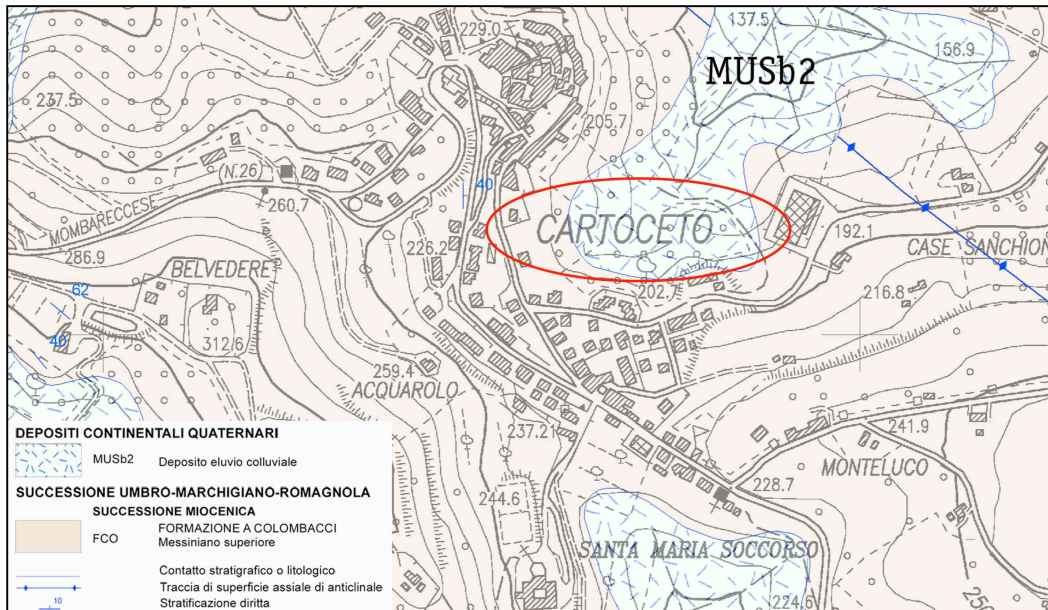


Figura 2 Stralcio carta geologica regionale sezione 280030 Cartoceto in scala 1:10.000 (R.M. Pichezzi, M. Pantaloni, C. D’Ambrogio, 2002)

3.4 Le Fosse: cenni storici, origini e caratteristiche

Le fosse sono cavità sotterranee, o buche, di forma tronco-conica, di fiasco o di pera, scavate nella roccia arenaria e hanno generalmente dimensioni di 2 – 3m di profondità e 2 – 2,5m di diametro (figura 3).

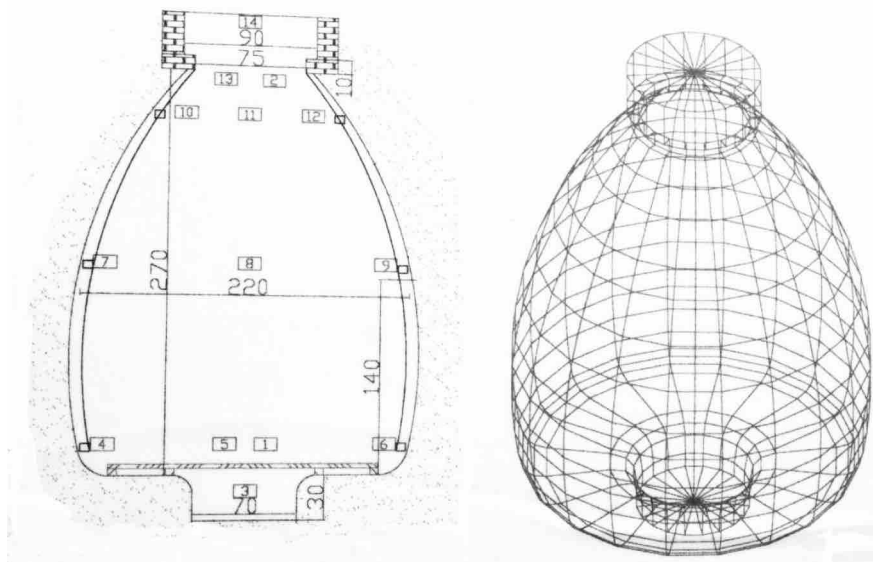


Figura 3 Forma, dimensioni e schema delle fosse

La pratica di scavare queste fosse risale al tardo medioevo e hanno rappresentato nei secoli un metodo di conservazione di derrate alimentari (granaglie, cereali, prodotti caseari) immessi al loro interno.

La funzione di queste fosse era quella di conservare scorte di generi alimentari di prima necessità in modo tale da far fronte ad ogni evenienza (carestie, alluvioni, guerre e altro).

Esse venivano solitamente scavate sotto i porticati di abitazioni storiche, nelle piazze, lungo le strade dei centri storici di pubblica proprietà o sotto il suolo pubblico comunque entro le mura cittadine.

La leggenda narra che il Formaggio di Fossa è nato per caso quando gli abitanti di Sogliano al Rubicone per sottrarre i loro averi alle incursioni nemiche si accorsero che il formaggio che veniva nascosto all'interno delle fosse era profondamente cambiato.

Da quel momento ebbe inizio la lunga tradizione dell'infossatura che si è tramandata nel tempo ed è giunta a noi immutata.

3.5 Geologia delle fosse

Quando si parla di Formaggio di Fossa ed in particolare quando si parla della natura geologica delle fosse dove questo prodotto viene stagionato, spesso si fa confusione e viene attribuito, alla roccia dove queste sono scavate, il nome di tufo.

Il tufo è una roccia piroclastica, presenta una genesi intermedia fra quella delle rocce ignee e quella delle rocce sedimentarie ed è originato dalla precipitazione delle polveri di origine vulcanica, causate dall'esplosione di un apparato vulcanico o di un vulcano, quindi, composto da pomici, lapilli, materiale polverulento.

La roccia dove sono scavate le fosse per la stagionatura del Formaggio di Fossa è un arenaria, ossia, sabbia trasportata dalle acque fluviali e marine che nel tempo si è cementata diventando roccia.

Le sabbie che costituiscono un'arenaria possono avere varie composizioni e caratteristiche, possono essere caratterizzate dalla presenza di limi ed argille, oppure, al contrario, possono essere omogeneamente costituite da granuli

uniformi, possono variare i gradi di cementazione nonché l'aspetto e la colorazione.

Scientificamente il tufo e l'arenaria sono diversi, in quanto, il tufo è di origine vulcanica e l'arenaria di origine fluviale e marina.

Arenarie dello stesso periodo geologico possono risultare diverse in base alla posizione in cui si sono sedimentate nell'ambito dello stesso bacino, più vicine a linee costiere, di mare più profondo.

Questa premessa ci aiuta a capire che le due località legate alla produzione del "Fossa" vanno distinte in quanto pur manifestando la medesima presenza di roccia arenaria, questa esprime peculiarità diverse da una zona all'altra.

3.6 Le origini del formaggio: definizione e cenni storici

Il termine formaggio deriva dal latino *formaticum*, le sue origini risalgono a 10000-18000 anni fa e la sua prima fabbricazione viene attribuita ai pastori della Mesopotamia (Cobras, P., Martinelli, A., 2004. Chimica degli alimenti).

Esistono numerose leggende sulla nascita del formaggio, la più nota è quella del mercante arabo.

"La leggenda narra che fu ottenuto per la prima volta da un mercante arabo che aveva conservato del latte, durante una traversata nel deserto, in un contenitore ottenuto dallo stomaco di una pecora.

Il riscaldamento da parte del sole e la rennina presente nello stomaco fecero coagulare il latte che si separò in siero e cagliata".

Altre tracce dell'utilizzo di questo alimento risalgono all'epoca romana, dove fu introdotto l'uso del latte vaccino, fino ad allora poco utilizzato e con esso anche l'uso di agenti coagulanti come il cardo, il fico, lo zafferano e l'aceto.

La produzione di formaggio nel mondo è principalmente concentrata in Europa (dove ebbe origine tra il XIV e il XVI secolo) e negli USA.

Secondo la normativa italiana (R.D. 15-10-1925, n.2033, art. 32 così modificato all'Art. 1 del R.D.L. 6-4-1933, n. 381) il formaggio è il prodotto ottenuto dal latte, parzialmente scremato o scremato, o dalla crema di latte in seguito a coagulazione acida o presamica, facendo uso di fermenti e di sale da cucina.

Il formaggio è un alimento ad alto valore nutrizionale, ricco di proteine, calcio e fosforo; sono riconosciute, inoltre, numerose proprietà antitumorali. Oggi le principali modifiche apportate a tale prodotto tengono conto dei gusti e delle diverse esigenze del consumatore; si assiste inoltre, all'introduzione di nuove tecnologie di produzione in grado di ottimizzare i processi.

3.7 Classificazione dei formaggi

La classificazione dei formaggi può essere fatta tenendo conto di diverse caratteristiche, riconducibili alla tipologia di latte utilizzato, al tempo di maturazione, alla consistenza della pasta, ai parametri tecnologici, ecc.

Per quanto riguarda la tipologia di latte si riconoscono i formaggi vaccino, pecorino, caprino, bufalino e misto (quando composto da una miscela di questi latti). Prendendo in considerazione la consistenza della pasta del prodotto finale, la classificazione FAO/WTO del 1972 prevede:

- formaggi extra duri: con un contenuto di umidità < 51%;
- formaggi duri: con un contenuto di umidità 49÷55%;
- formaggi semi-duri: con un contenuto di umidità 53÷63%;
- formaggi semi-molli: con un contenuto di umidità 61÷68%;
- formaggi molli: con un contenuto di umidità > 66%.

Un altro parametro di classificazione di grande importanza commerciale, essendo l'unico che abbia un valore legale (R.D.L. 12.8.1927 n°25) è quello che si basa sul diverso contenuto di sostanza grassa. Secondo questa classificazione i formaggi vengono distinti in:

- formaggi grassi: con un contenuto di grasso > 42% sulla sostanza secca;
- formaggi semigrassi: con un contenuto di grasso tra il 20 e il 42% sulla sostanza secca;
- formaggi magri: con un contenuto di grasso < 20% sulla sostanza secca.

A seconda della durata della maturazione, vengono divisi in:

- extra rapida: entro 3 giorni;
- rapida: entro 1 mese;
- media: tra 1 e 6 mesi;

- lenta: oltre 6 mesi.

Per quanto riguarda i parametri tecnologici, la classificazione prende in considerazione tre fasi del processo di caseificazione:

- sosta del latte, che permette la distinzione tra formaggi ad acidità di fermentazione (che subiscono la sosta) e formaggi ad acidità naturale;
- cottura della cagliata, che consente di distinguere i formaggi a pasta cruda, semicotta (cagliata riscaldata fino a 48°C), cotta (cagliata riscaldata a temperatura tra i 48 e 58°C), filata (cagliata sottoposta a filatura in acqua calda a 80-90°C);
- tempo di maturazione, che determina la classificazione formaggi a maturazione rapida (tempo < di 30 giorni), maturazione media (periodo compreso tra 1 e 6 mesi), maturazione lenta (tempo superiore a 6 mesi).

La recente legislazione consente inoltre di suddividere i formaggi in base alla loro appartenenza al territorio di origine, suddividendoli in denominazione di origine: Parmigiano Reggiano, Fontina, Gorgonzola e altri; a denominazione tipica: Toma, Ragusano, Caciocavallo e altri; generici, cioè con denominazione di fantasia: Fontal, Camoscio, Bel Paese e altri (Sicheri G., 1994).

3.8 Composizione nutrizionale

Il formaggio è composto principalmente da acqua, proteine e materia grassa; è costituito dalla caseina e dal grasso, ma può contenere, anche grazie a innovazioni tecnologiche, le siero proteine, oltre a vitamine, sali minerali ed enzimi. La composizione chimica del formaggio rispecchia quella del latte di partenza, ma cambia, con il variare delle caratteristiche organolettiche, dalla lavorazione al termine della maturazione. Il formaggio contiene un'alta concentrazione di nutrienti essenziali rispetto al suo valore energetico, influenzati dal tipo di latte utilizzato.

Il contenuto proteico varia dal 3 al 40%, il valore biologico è leggermente inferiore rispetto a quello del latte. Sono altamente digeribili, dato che la caseificazione e la maturazione determinano un aumento dell'idrolisi delle caseine e un aumento della frazione solubile.

Per quanto riguarda i carboidrati, il lattosio del latte è in soluzione nel siero e quindi nel formaggio ne permangono solo piccole quantità, che vengono rapidamente fermentate dai batteri starter. Quindi può essere un alimento adatto per le diete di individui intolleranti al lattosio.

La frazione lipidica varia sensibilmente in base al latte usato; nutrizionalmente la sua digeribilità varia tra l'88 e il 94%. Nel formaggio sono presenti molti acidi grassi a corta catena di più alta assimilazione, l'alta concentrazione di acido oleico favorisce un buon assorbimento. Gli acidi grassi maggiormente presenti nel formaggio sono quelli saturi a seguire i monoinsaturi e in minor concentrazione i polinsaturi. Il grasso nei formaggi può essere fonte di colesterolo.

Il contenuto di vitamine è anch'esso influenzato dal latte di partenza soprattutto per le vitamine liposolubili. Le vitamine idrosolubili sono inferiori rispetto a quelle del latte perché rimangono nel siero, ma nel complesso rappresentano buone fonti di vitamina, riboflavina e vitamina B12. E' anche un'importante fonte di sali minerali, soprattutto calcio, fosforo, e magnesio: 100 g di formaggio, infatti, possono apportare 800 mg di calcio (livello di assunzione giornaliero) (Paolo Cabras, Aldo Martelli, chimica degli alimenti).

3.9 Processo produttivo

Il processo di trasformazione casearia prevede diverse operazioni di base, comuni ai diversi tipi di formaggio, che possono essere realizzate applicando parametri e variabili tecnologiche differenti, dando così origine ad una grande varietà di prodotti.

Le operazioni di base per la caseificazione sono:

1. Preparazione del latte;
2. Coagulazione del latte;
3. Spurgo e rottura della cagliata;
4. Cottura;
5. Salatura;
6. Eventuale maturazione e stagionatura.

Preparazione del latte

Dopo essere stato sottoposto a filtrazione ed alcune analisi chimiche (acidità titolabile, grasso, sostanze azotate totali) e microbiologiche (carica microbica totale, coliformi, microrganismi anaerobi sporigeni gasogeni, assenza di patogeni) previste per legge, il latte subisce una serie di fasi e/o trattamenti, che dipendono anche dalla tipologia di formaggio che si vuole produrre, come:

- La sosta del latte, della durata di alcune ore, prevista nella produzione di formaggi a media e a lunga maturazione. Tale fase ha la funzione di favorire sia lo sviluppo della microflora acidificante (batteri lattici), sia l'affioramento della crema al fine di eliminare, assieme al grasso, una parte dei batteri e le eventuali spore di clostridi.
- La termizzazione, che consiste nel riscaldamento del latte crudo per almeno 15 secondi ad una temperatura compresa tra 57 e 68 °C.
- La pastorizzazione, che è ottenuta con un trattamento termico che comporta un'elevata temperatura a breve periodo (71,7 °C per 15 secondi o qualsiasi altra combinazione di tempo e temperatura con effetto equivalente).

Nel processo produttivo di formaggi ovinii il latte non viene preventivamente scremato come avviene per molti formaggi vaccini; tuttavia, nelle lavorazioni industriali, subisce un trattamento di pastorizzazione. Successivamente, si ha un riscaldamento in caldaia a 36-41 °C con eventuale inoculo nel latte di microrganismi ritenuti favorevoli allo sviluppo di fermentazioni e trasformazioni, detti fermenti o starter, che caratterizzano ciascun tipo di formaggio. Al latte possono essere aggiunti batteri lattici (*Lactobacillus helveticus* e *Streptococcus thermophilus*) con azione acidificante ed aromatizzante, oppure batteri proponici con azione aromatizzante. L'inoculo del latte può avvenire con colture naturali, ottenute facendo sviluppare in latte od in siero la flora microbica già presente (latto-innesto e siero-innesto), oppure utilizzando colture selezionate in laboratorio e successivamente liofilizzate (latto-fermento e siero-fermento).

Coagulazione del latte

La coagulazione avviene grazie a numerosi fattori come acidità, temperatura, sali minerali presenti nel latte ed aggiunta del caglio, che determinano profonde modificazioni a carico delle proteine del latte ed in particolare della caseina.

La coagulazione del latte è la fase in cui si ha:

- la precipitazione delle caseine,
- la formazione della cagliata,
- la separazione del siero.

La caseina è una proteina coniugata che contiene zuccheri, fosforo organico legato alla serina, fosforo inorganico, calcio, magnesio ed acido citrico. Essa è presente nel latte in dispersione colloidale (fosfo-caseinato di calcio) allo stato micellare.

La caseina intera si separa per elettroforesi in tre frazioni: α , β e γ . È quindi possibile distinguere: il monomero, cioè la singola frazione caseinica (α , β e γ) la submicella, cioè il complesso formato dall'unione delle frazioni α , β e γ con legame covalenti e la micella, cioè l'aggregato di submicelle unite da ioni di calcio, fosfato e citrato. Il calcio ed il fosforo inorganici, che contribuiscono alla stabilizzazione della caseina sono detti "colloidali" perché intimamente connessi ad essa e in equilibrio con le altre forme solubili nel siero, come ioni e sali. Questo equilibrio può essere modificato da variazioni di pH e temperatura.

La coagulazione può essere distinta in:

- acida o lattica, quando la precipitazione delle caseine è dovuta all'azione dell'acidità, vale a dire all'abbattimento del pH. Essa provoca lo spostamento dell'equilibrio delle forme inorganiche di calcio e fosforo da colloidali a solubili, con completa demineralizzazione della micella che si scinde in submicelle. Le submicelle, non avendo più carica netta, perdono lo stato di idratazione e quindi, se la temperatura è superiore a 4°C, si ha la formazione di grossi aggregati che precipitano. Tale fenomeno si verifica quando si raggiunge il punto isoelettrico della caseina (pH 4,6). La cagliata è poco consistente, non elastica e poco coesa;
- presamica o enzimatica, che avviene, invece, quando il caglio è aggiunto al latte. In una prima fase, gli enzimi del caglio idrolizzano la frazione K-caseina (parte dell' α -caseina che si separa in α_s e K) in paracaseina K (1-

105) e caseina-glicomacropeptide (106-169); la paracaseina è insolubile e basica e rimane integrata nelle micelle, mentre la caseina- macropeptide è solubile a reazione acida e viene solubilizzata nel siero. Nella seconda parte si ha la coagulazione vera e propria, in cui la perdita della parte idrofila destabilizza le micelle che, così modificate, formano legami fra loro e danno vita ad un gel che mantiene gli ioni colloidali ed è mineralizzato, elastico e contrattile. Si creano infine reazioni intramicellari con legami idrofobici e ponti SH fra le paracaseine e legami (Ca e fosfato di Ca) fra le caseine α s e β . Il gel presamico mineralizzato, quindi, presenta un aumento della caseina e della fermezza all'avanzare della sineresi.

Il caglio è un estratto di origine animale che contiene gli enzimi proteolitici (chimosina e pepsina) coagulanti la caseina, ottenuti dall'abomaso di vitelli o agnelli, lavorato e stabilizzato su un supporto liquido o in pasta. Certi cagli contengono lipasi, enzimi in grado di idrolizzare il grasso e contribuire a definire le caratteristiche organolettiche dei formaggi. Si ottiene, quindi, la cagliata grazie al passaggio dallo stato colloidale delle caseine in fase sol allo stato gel; ciò fa sì che venga ceduto il siero e vengano trattenute, oltre a varie proteine, anche percentuali di grasso. Nel siero, invece, si trovano lattosio, siero-proteine, sali solubili e grasso fino ad una percentuale dell'1%.

Spurgo e rottura della cagliata

Lo spurgo è l'insieme dei fenomeni che provocano l'espulsione del siero e della cagliata. Al termine della coagulazione si è avuta la formazione di una sorta di reticolo all'interno del quale è incluso il siero che si presenta però in uno stato fisico instabile. Più o meno rapidamente il gel elimina una parte di lattosiero e, contemporaneamente, si contrae e guadagna consistenza.

Lo spurgo può avvenire con:

- meccanismi passivi di porosità e permeabilità del gel dovuti alla conformazione discontinua del reticolo; questa è una caratteristica dei gel lattici, carenti in fatto di sineresi;

- meccanismi attivi di contrazione del reticolo dovuti al riarrangiamento molecolare che fa seguito alla progressione della proteolisi. I nuovi legami che si formano portano alla contrazione del gel con l'espulsione del siero (sineresi).

La perdita di liquido sarà tanto maggiore quanto maggiore è l'azione meccanica durante la rottura della cagliata. Nei formaggi a pasta dura, durante la rottura, si giunge alle dimensioni di un chicco di mais o di riso, consentendo una maggiore perdita d'acqua rispetto ai formaggi molli a più elevato contenuto di umidità, dove la cagliata viene ridotta, al massimo, alle dimensioni di una noce o nocciola. In generale, la sineresi è più facile nel coagulo presamico e più limitata nei coaguli acidi, in quanto la cagliata è meno contrattile.

Cottura e Salatura

La cottura è una fase che non sempre viene attuata, ma che consente un'ulteriore perdita d'acqua ed il compattamento dei grumi caseosi; essa consiste nel mantenere la cagliata in agitazione all'interno della caldaia a temperature comprese tra 44 e 56°C.

La salatura è l'ultimo trattamento cui sono sottoposti i formaggi prima della stagionatura: l'azione del sale è conservante, antisettica (limita lo sviluppo microbico e la formazione di muffe) e osmotica poiché il formaggio cede siero (si accelera ulteriormente lo spurgo dell'acqua) e, contemporaneamente, si arricchisce di sale (accentuando il sapore). (www.agraria.it, www.ganassa.com)

Maturazione e Stagionatura

È la fase del processo produttivo del formaggio che determina le caratteristiche finali dello stesso conferendogli la consistenza e le caratteristiche organolettiche tipiche. Infatti, attraverso la maturazione, una cagliata, caratterizzata da un gusto ed aroma ancora prevalentemente simili a quelli del latte, si trasforma in formaggio assumendo caratteristiche reologiche, di sapore ed aroma peculiari.

La stagionatura avviene in appositi locali (cantine, fosse, grotte, ecc...) o in celle termoregolate, comunque caratterizzate da basse temperature (3-10°C) ed elevata

umidità (85-95 %); può durare pochi giorni, come nel caso di formaggi freschi, oppure prolungarsi addirittura per alcuni anni per i formaggi a pasta dura.

La maturazione dei formaggi è un processo fondamentale che ha lo scopo di fare assumere al prodotto la consistenza e l'aspetto esteriore che si desidera e, nel contempo, di evidenziare sapori ed aromi particolari attraverso un complesso e laborioso processo chimico-fisico.

Essa è quindi il risultato di vari fenomeni chimici e fisici che avvengono a carico della cagliata e che determinano la tessitura della pasta, l'aspetto esteriore della forma e soprattutto l'aroma ed il sapore del formaggio, attraverso un complesso e laborioso processo chimico-fisico ed enzimatico.

I principali processi che avvengono in questa fase sono:

- ulteriore espulsione del siero;
- formazione della crosta superficiale;
- fermentazione totale del lattosio;
- lipolisi con produzione di glicerolo e acidi grassi liberi, che vengono ulteriormente degradati ad aldeidi, chetoni, alcoli;
- degradazione dell'acido lattico;
- proteolisi lenta della caseina con produzione di polipeptidi, peptidi, peptoni e aminoacidi liberi, che vengono decarbossilati e deaminati, con formazione ulteriore di composti desiderati e indesiderati.

In seguito agli ultimi due processi, il pH del formaggio tende ad aumentare. Le rese sono molto variabili in funzione della qualità del latte, della tecnologia impiegata e del diverso contenuto idrico del formaggio. La riconoscibilità di un formaggio è data dalla diversa combinazione dei risultati delle molteplici attività enzimatiche presenti nella cagliata, che agiscono promuovendo la degradazione di zuccheri, grasso e proteine. Sotto l'aspetto formale, la maturazione del formaggio è un processo essenzialmente enzimatico. Gli enzimi degradano i substrati specifici producendo sostanze più semplici, i cosiddetti prodotti primari, che si possono ritrovare integri nel prodotto finito o possono essere ulteriormente rielaborati e biotrasformati in altri prodotti definiti secondari.

I cambiamenti che avvengono durante la maturazione possono essere divisi in due eventi fondamentali:

- il primo coinvolge la formazione di peptidi e amminoacidi dalla caseina, la formazione di acidi grassi dai lipidi del latte, la conversione del lattosio in acido lattico, mentre altre fermentazioni producono anidride carbonica, etanolo e acido acetico. Inoltre, i cambiamenti primari possono coinvolgere anche la degradazione del citrato;
- il secondo coinvolge invece la conversione dei prodotti finali che risultano dai cambiamenti primari, con formazione di amine, acidi organici, composti solforosi e anidride carbonica da parte degli amminoacidi, mentre gli acidi grassi vengono trasformati in chetoni, lattoni, aldeidi e alcoli secondari.

Tra i principali responsabili delle lente modificazioni del formaggio, un ruolo centrale è svolto dai microorganismi. La microflora del latte crudo, quella degli starter e quella che si trasferisce dagli ambienti di produzione e stagionatura sono perciò da considerarsi i motori del processo di caseificazione e dello sviluppo delle caratteristiche organolettiche del formaggio. I microorganismi presenti naturalmente nel latte, o aggiunti come innesto, prima come entità cellulari definite e poi come estratti enzimatici rilasciati in seguito a lisi cellulare, agiscono in modo concertato nei confronti di zuccheri, protidi e lipidi. In questo senso è corretto ritenere che le specie ed il tipo di microorganismi presenti siano uno dei fattori chiave nell'acquisizione di quei caratteri organolettici che definiscono un formaggio.

Anche la tempistica dei singoli eventi biochimici durante la stagionatura può condizionare la qualità del formaggio: il momento della lisi cellulare ed il conseguente rilascio nel mezzo di enzimi intracellulari è pertanto un fattore cruciale nella stagionatura di un prodotto. Le diverse tecnologie di produzione, selezionando le specie e i biotipi microbici, condizionano il loro sviluppo e la loro lisi, differenziando la qualità delle diverse tipologie di formaggio. Risultano di notevole importanza ai fini della maturazione anche la quantità di acqua e sale presente, il pH del formaggio, l'umidità dell'ambiente, la forma e la dimensione del formaggio.

3.10 Formaggi tradizionali della regione Marche ed Emilia Romagna

Quello dei formaggi è considerato il gruppo più diverso dei prodotti lattiero-caseari e l'Italia è sicuramente uno dei paesi con la più vasta produzione di formaggi. La settima revisione dell'“Elenco nazionale dei prodotti agroalimentari tradizionali”, derivante dal D.M. del 18 luglio del 2000 (pubblicato nel supplemento ordinario n. 130 della Gazzetta Ufficiale n. 194 del 21 agosto 2000), elenca i prodotti tipici registrati della Regione Marche ed Emilia Romagna, fra cui si trovano anche determinate tipologie di formaggi come: la caciotta, la caciotta d'Urbino, il pecorino, il “Formaggio di Fossa di Sogliano al Rubicone e Talamello”.

3.11 Formaggio di Fossa

Il Formaggio di Fossa (Figura 4) è un prodotto tradizionale italiano dell'area del Montefeltro, compresa tra le regioni Marche ed Emilia-Romagna la cui origine risale al Medioevo, quando gli abitanti del posto solevano porre, all'interno di fosse tronco coniche scavate nella roccia arenaria, i cibi per conservarli durante l'inverno e proteggerli dagli invasori (Clementi, Di Antonio, 1998; Varotti, 1988).



Figura 4 Formaggio di Fossa

Le prime documentazioni circa l'utilizzo delle tecniche d'infossatura risalgono al XVI, quando la signoria dei Malatesta istituì la Compagnia dell'Abbondanza dentro la cinta muraria, nei castrum, e nelle tumbae, case coloniche sparse sul territorio. Le fosse erano usate per custodire, celare, preservare cereali, generi alimentari di varia natura e per stagionare il formaggio, in caso di assedio,

epidemia, carestia e per sottrarlo alle durissime clausole dei contratti che regolavano le colonie. Nel corso dei secoli l'usanza si è mantenuta costante e leale, secondo le regole stabilite dai codici malatestiani (Disciplinare di produzione "Formaggio di Fossa di Sogliano" DOP). La peculiarità di questo prodotto, è la maturazione all'interno di fosse di forma tronco – conica (Figura 5) costituite da rocce di natura sedimentaria, rocce arenarie.



Figura 5 Fossa tronco-conica

Oggi il Formaggio di Fossa occupa una posizione importante nel mercato italiano, ma dato il piccolo numero di produttori e la zona di produzione, la produzione del Formaggio di Fossa è piuttosto limitata, pertanto ci si ritrova molto spesso dinanzi alla commercializzazione di prodotti simili a prezzi più bassi. Quindi in un mercato in cui i due prodotti sono disponibili, la caratterizzazione del profilo aromatico del Formaggio di Fossa rappresenta un importante biglietto da visita per garantirne l'autenticità.

3.12 Fasi di produzione del Formaggio di Fossa

Secondo la tradizione il Formaggio di Fossa viene prodotto utilizzando latte ovino, latte bovino o tramite unione degli stessi nelle percentuali del 20 e 80 rispettivamente. Segue la pastorizzazione a (72 °C per 30 min), e l'aggiunta di enzimi starter mesofili, appartenenti al ceppo *Lactococcus cremoris* e *Lactococcus lactis*, e caglio di animale (Gobbetti et al., 1997b; Avellini et al., 1999). Dopo la coagulazione, che è completata in circa 20 minuti, la cagliata viene rotta fino alle dimensioni di un chicco di mais e lasciata riposare per circa

15 minuti prima di essere trasferita nelle forme perforate di 10-12 cm di diametro e 6-10 cm di profondità (Figura 6). Dopo 24 ore le forme vengono salate a secco da un lato e dopo 12 ore vengono saltate sull'altro lato.

Una prima maturazione avviene in caseificio, dove i formaggi dopo essere stati rimossi dagli stampi e salati, vengono posti su assi di alluminio ad una temperatura di 14,8 °C ed umidità relativa del 78% (Figura 7), condizioni mantenute per circa 2 mesi (Avellini et al 1999).



Figura 6 Formaggio appena cagliato



Figura 7 Maturazione in caseificio

La prima fase di maturazione è seguita dalla stagionatura in fossa, all'interno della quale i formaggi dopo essere stati ripuliti dalla muffa e chiusi in sacchi di tela contrassegnati (Figura 8) soggiornano per 70-90 giorni, da Agosto a Novembre (Massa et al.1986); trascorso questo tempo, le forme di formaggio vengono rimosse dalle fosse.



Figura 8 Formaggi racchiusi in sacchi di tela

3.13 Relazione tra l'ambiente di produzione e il prodotto

Il processo produttivo del “Formaggio di Fossa di Sogliano al Rubicone e Talamello”, presenta caratteristiche del tutto uniche perché indissolubilmente correlate allo specifico ambiente geologico e climatico, nonché alla tradizione propriamente locale, leale e costante nel corso dei secoli, di cui sono abili detentori solo gli infossatori del luogo che si sono tramandati conoscenza e “sensibilità” da generazione in generazione.

L'area di produzione si sviluppa lungo il crinale collinare della dorsale appenninica tra Romagna e Marche la quale presenta le seguenti caratteristiche geomorfologiche: forme dolci e arrotondate dei rilievi, crinali ampi e versanti con pendenze più o meno moderate, che degradano verso i fondovalle. Frequenti e di piccole dimensioni, tranne qualche eccezione, i franamenti inseriti all'interno delle aree colluviali dove la natura del substrato è prevalentemente argillosa. Più stabili sono i pendii a rocce madri arenacee che costituiscono la vera ossatura stabile dell'intero ambito territoriale esaminato. Il territorio in oggetto (Figura 9) è formato da sedimenti argillosi, sabbiosi o alternanze di essi, appartenenti ai depositi del Pliocene inferiore e del Quaternario attuale (Disciplinare Di Produzione “Formaggio di Fossa di Sogliano al Rubicone e Talamello” DOP).



Figura 9. Zona di produzione del Formaggio di Fossa

I siti all'interno dei quali sono state scavate le fosse, sono caratterizzati geologicamente da formazioni arenarie, in generale poco cementate, di colore giallo-bruno o giallastre, in strati dello spessore variabile dai 30/40 cm. a 1 mt. circa, con alternanze di sottili livelli di argille marnose grigie e grigio-azzurre le

quali presentano una sola apertura con un diametro compreso tra 60 e 200 cm. Prima dell'infossamento del formaggio le fosse vanno adeguatamente preparate secondo la seguente metodologia:

- sanificazione mediante fuoco e fumo;
- rivestimento con uno strato di paglia di 10-15 cm, che separa il prodotto dalle pareti di roccia;
- inserimento di un pavimento sopraelevato di legno che permette la raccolta del grasso che percola dalle forme durante la maturazione

La copertura dell'apertura della fossa avviene con teli non colorati e idonei all'uso alimentare, e/o quindi chiusa tramite l'apposizione di un coperchio di legno sigillato con gesso o malta di arenaria calcitrata.

3.14 Caratteristiche del prodotto

Il Formaggio di Fossa presenta la parte esterna di colore dal bianco avorio fino al giallo ambrato, forma irregolare con arrotondamenti e depressioni, dovute al fatto che le forme sono fortemente stipate all'interno delle fosse; la superficie, inoltre, si presenta umida e grassa, talora ricoperta da muffe, piccole screpolature e a volte sono presenti macchie giallo ocre.

La parte interna presenta una consistenza semidura, piuttosto friabile, colore bianco ambrato o paglierino; odore caratteristico e persistente, ricco di aromi con sentori di muffa e di tartufo; sapore decisamente piccante, con una punta di amaro e (Barbieri et al., 2012. Gioacchini et al., 2010).

In alcuni studi, diretti verso lo studio delle caratteristiche sensoriali, è stato riportato che il Formaggio di Fossa risulta meno duro, più umido, salato, piccante ed acido con un aroma più pronunciata rispetto a quello stagionato in caseificio (Avellini et al., 1999).

3.15 Originalità e tracciabilità del prodotto

Il controllo sulla conformità del prodotto al disciplinare, è svolto, da una struttura di controllo, conformemente a quanto stabilito dagli artt. 10 e 11 del Reg. CE 510/2006.

Il “Formaggio di Fossa di Sogliano al Rubicone e Talamello” DOP è immesso al consumo secondo le seguenti modalità di confezionamento:

- a) vendita nei sacchi di stagionatura;
- b) vendita in confezioni sottovuoto, delle forme intere o porzionate;
- c) vendita in confezioni di carta vegetale.

Sull’etichetta devono comparire, a caratteri di stampa chiari e leggibili, oltre al logo della denominazione (Figura 10), al simbolo grafico comunitario e relative menzioni (in conformità, alle prescrizioni del Reg. CE 1726/98 e successive modifiche) e alle informazioni corrispondenti ai requisiti di legge le seguenti ulteriori indicazioni:

- tipologia di latte utilizzato;
- nome, ragione sociale, indirizzo dell’azienda produttrice e confezionatrice;
- luogo, codice identificativo della fossa e periodo di infossatura.

E’ vietata l’aggiunta di qualsiasi qualificazione non espressamente prevista. E’ tuttavia ammesso l’utilizzo di indicazioni che facciano riferimento a marchi privati, purché questi non abbiano significato laudativo o siano tali da trarre in inganno il consumatore. Il logo della DOP “Formaggio di Fossa di Sogliano al Rubicone e Talamello” è costituito dalla forma stilizzata di una fossa, i cui contorni esterni, a forma di trapezio isoscele, rappresentano la pietra arenaria e i cui contorni interni, rappresentano le forme dei formaggi che fuoriescono dalla base minore aperta del trapezio isoscele.

Al centro della fossa è situato il simbolo araldico della Signoria Malatesta, un elefantino. I disegni sono in rosso (pantone 221 CVU) su base giallo paglierino (pantone Yellow Quadricromia retinato al 40 %).

Sotto il semicerchio che delimita la base maggiore del trapezio, si trova la dicitura FORMAGGIO DI FOSSA, in carattere Franklin Gothic Extra Condensed grassetto, stampatello maiuscolo in rosso. Nella due righe sottostanti è riportata la scritta di Sogliano al Rubicone e Talamello in carattere Franklin Gothic Extra

Condensed grassetto, stampatello minuscolo in rosso, sempre su base giallo-paglierino (Figura 10).

La superficie occupata dal logo di identificazione sopra specificato, non dovrà essere inferiore al 33% della superficie totale dell'etichetta.

Attorno al logo, nella parte laterale superiore dell'etichetta a destra e a sinistra formando un semicerchio, va riportata la scritta, sempre in carattere grassetto stampatello minuscolo in rosso “delle terre Malatestiane e del Montefeltro”, a dimostrazione della continuità storica e del legame con il territorio.



Figura 10 Logo inserito nel Disciplinare di produzione del "Formaggio di Fossa" DOP riconosciuto con Reg. 1182/2009

I prodotti inseriti nella DOP “Formaggio di Fossa di Sogliano al Rubicone e Talamello”, anche a seguito di processi di elaborazione e di trasformazione, possono essere immessi al consumo in confezioni recanti il riferimento alla detta denominazione senza l’apposizione del logo comunitario, a condizione che:

- il prodotto a denominazione protetta, certificato come tale, costituisca il componente esclusivo della categoria merceologica;
- gli utilizzatori del prodotto a denominazione protetta siano autorizzati dai titolari del diritto di proprietà intellettuale conferito dalla registrazione della DOP riuniti in Consorzio incaricato alla tutela dal Ministero delle politiche agricole alimentari e forestali.

Lo stesso consorzio incaricato provvederà anche ad iscriverli in appositi registri e a vigilare sul corretto uso della denominazione protetta.

In assenza di un consorzio di tutela incaricato, le predette funzioni saranno svolte dal Ministero delle politiche agricole alimentari e forestali in quanto autorità nazionale preposta all'attuazione del Reg. (CE) 510/2006.

4 Obiettivo della Tesi

L'obiettivo del presente elaborato di tesi è stato quello di approfondire la conoscenza e le relazioni con l'ambiente di produzione di un prodotto storico nella tradizione gastronomica italiana, il Formaggio di Fossa, estremamente peculiare nei suoi caratteri organolettici, intimamente legati al processo di stagionatura.

Il lavoro sperimentale è consistito nello studio, in due distinti siti (Talamello e Cartoceto), delle relazioni che intercorrono tra le caratteristiche geologiche e microclimatiche delle fosse e i parametri chimico-nutrizionali, microbiologici e del profilo delle molecole volatili dei formaggi di fossa..

Questo tipo di studio è stato possibile realizzarlo grazie anche alla collaborazione del caseificio Valmetauro Fattorie Marchigiane (Cooperlat – Trevalli) di Montemaggiore al Metauro (PU) che ci ha permesso di infossare lo stesso lotto di formaggi (40q) nelle due fosse oggetto di studio, 20q nella fossa di Talamello e 20q nella fossa di Cartoceto.

Al fine di valutare le caratteristiche geologiche e microclimatiche delle fosse, sono stati prelevati campioni di roccia e di paglia al loro interno e monitorato il microclima durante il periodo di stagionatura del formaggio. Invece, per valutare le differenze e le modificazioni indotte al formaggio dall'infossatura e dalle differenti fosse sono stati presi in considerazione campioni di formaggio nelle diverse fasi di produzione, dalla cagliata alla sfossatura in modo tale da definire l'eventuale correlazione tra l'infossatura, tra le differenti fosse e lo sviluppo delle caratteristiche del prodotto.

5 Materiali e metodi

Nella prima fase si è proseguito con lo studio e la caratterizzazione delle fosse e successivamente è stato eseguito il campionamento e le analisi eseguite sui campioni di formaggio.

La fase preliminare del presente lavoro, ha riguardato:

- Prelievo di 1l di latte (Figura 11) e di n° 3 forme di formaggio appena cagliato denominati Ft 0 (Figura 12);
- Prelievo di n° 3 forme di formaggio stagionato sessanta giorni in caseificio (fine stagionatura), a temperatura e umidità controllata, denominati Ft 1 (Figura 13).



Figura 11 Campione di latte

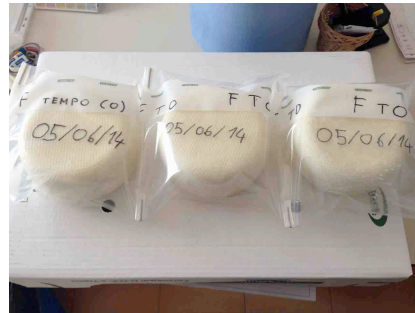


Figura 12 Formaggio appena cagliato



Figura 13 Formaggi stagionati 60 giorni

Tutti i campioni una volta prelevati sono stati conservati in frigo ad una temperatura di -20 °C e successivamente trasferiti all'Istituto di Scienze dell'Alimentazione (ISA-CNR) di Avellino per essere sottoposti ad analisi.

La seconda fase del lavoro, prima dell'infossatura del formaggio e chiusura della fossa, ha riguardato:

- Prelievo di n° 1 campione di roccia (Figura 14) e di n° 1 campione di paglia della fossa di Talamello denominati rispettivamente RT 0 e PT 0;
- Installazione di sistema di acquisizione dati microclimatici all'interno della fossa di Talamello;
- Prelievo di n° 1 campione di roccia (Figura 14) e di n° 1 campione di paglia della fossa di Cartoceto denominati rispettivamente RC 0 e PC 0;
- Installazione di sistema di acquisizione dati microclimatici all'interno della fossa di Cartoceto.



Figura 14 Campione roccia Talamello e Cartoceto prima dell'infossatura

Dopo questa fase le fosse, riempite di formaggio, sono state chiuse dando corso quindi alla stagionatura del formaggio che nel nostro specifico caso è durata 77 giorni sia per la fossa di Talamello (Figura 15) che per la fossa di Cartoceto (Figura 16).

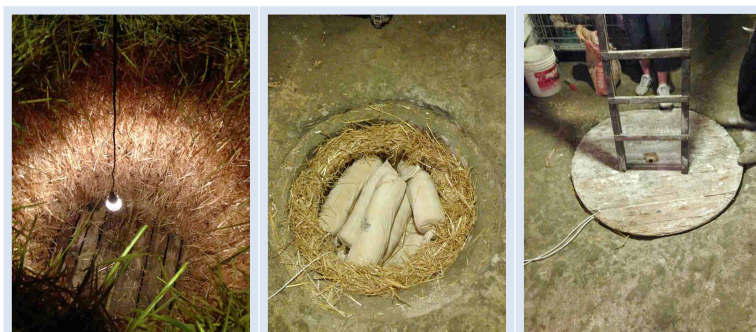


Figura 15 Fossa Talamello - Fossa Vuota - Fossa Piena - Fossa Chiusa

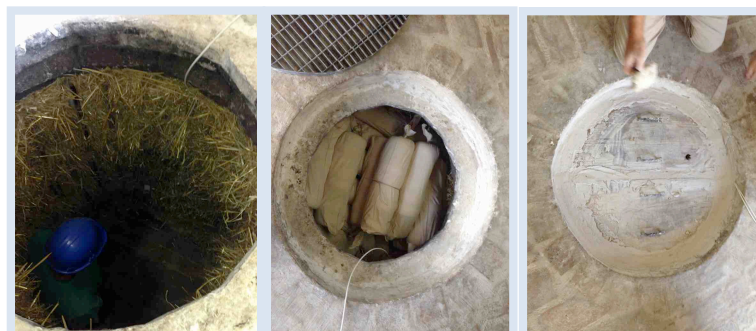


Figura 16 Fossa Cartoceto - Fossa Vuota - Fossa Piena - Fossa Chiusa

Trascorso questo periodo si è arrivati alla terza fase, apertura della fossa e sfossatura del formaggio (Figura 17) (Figura 19), che ha riguardato:

- Prelievo di n° 9 forme di formaggio dalla fossa di Talamello (Figura 18) posizionate n° 3 forme sul fondo, n°3 forme al centro e n°3 forme sulla superficie della fossa denominati rispettivamente TN1, TN2 e TN3;
- Prelievo di n° 3 campioni di paglia, fossa Talamello (Figura 18), campionati in corrispondenza delle posizioni dei campioni di formaggio, ossia sul fondo, al centro e in superficie, denominati rispettivamente PTN1, PTN2 e PTN3;
- Prelievo di n° 3 campioni di roccia, fossa Talamello (Figura 18), campionati in corrispondenza sia delle posizioni dei campioni di formaggio sia delle posizioni dei campioni di paglia e denominati rispettivamente RTN1, RTN2 e RTN3;
- Prelievo di n° 9 forme di formaggio dalla fossa di Cartoceto (Figura 20) posizionate n° 3 forme sul fondo, n° 3 forme al centro e n°3 forme sulla superficie della fossa denominati rispettivamente CN1, CN2 e CN3;
- Prelievo di n° 3 campioni di paglia, fossa Cartoceto (Figura 20), campionati in corrispondenza delle posizioni dei campioni di formaggio, ossia sul fondo, al centro e in superficie, denominati rispettivamente PCN1, PCN2 e PCN3;
- Prelievo di n° 3 campioni di roccia, fossa Cartoceto (Figura 20), campionati in corrispondenza sia delle posizioni dei formaggi sia delle posizioni dei campioni di paglia e denominati rispettivamente RCN1, RCN2 e RCN3.



Figura 17 Apertura della fossa di Talamello e sfossatura del formaggio



Figura 18 Campioni di formaggio, paglia e roccia (Talamello)



Figura 19 Apertura della fossa di Cartoceto e sfossatura del formaggio



Figura 20 Campioni di formaggio, paglia e roccia (Cartoceto)

Con l'apertura della fossa è terminata la fase di acquisizione dei dati microclimatici e la fase di prelievo di campioni sia di roccia, paglia, che di formaggio.

I campioni di roccia sono stati trasferiti ed analizzati presso i laboratori dell'Istituto per l'Ambiente Marino Costiero (IAMC-CNR) di Capo Granitola (TP) e sono state effettuate le seguenti analisi: misure di pH, misure di umidità totale, determinazione del coefficiente di imbibizione e analisi mineralogiche.

Tutti i campioni di formaggio e di paglia sono stati trasferiti ed analizzati presso i laboratori dell'Istituto di Scienze dell'Alimentazione (ISA-CNR) di Avellino; sui campioni di formaggi, per ogni forma sono state prelevate 3 aliquote e sono state effettuate le seguenti analisi: determinazione del contenuto di acqua,

determinazione del contenuto ceneri, determinazione delle proteine totali, determinazione del pH, estrazione dei lipidi totali, determinazione del profilo acido, determinazione dei cloruri, analisi microbiologiche, e analisi delle molecole volatili; sui campioni di paglia sono state effettuate misure per la determinazione dell'umidità totale.

5.1 Analisi Macro e Microscopica della roccia

Per una dettagliata osservazione sia macro che microscopica della roccia è stata eseguita una sezione trasversale dei due campioni oggetto di studio utilizzando una microsezionatrice “Buehler Isomet Low Speed Saw” (Figura 21). Una volta sezionato, il campione è stato inglobato in resina e nuovamente tagliato ottenendo una sezione dello spessore di circa 2 mm.

Le due sezioni ottenute sono state osservate e fotografate utilizzando uno stereoscopio “Zeiss Discovery. V20” munito di fotocamera AxioCam MRc 5 (Figura 22).



Figura 21 Microsezionatrice



Figura 22 Stereoscopio

5.2 Determinazione del pH della Roccia

Il pH della roccia è stato determinato per via potenziometrica su sospensioni di sedimento-soluzione di CaCl_2 ($0,01 \text{ moli l}^{-1}$) (Figura 23).

La soluzione salina è stata preparata sciogliendo con H_2O in un matraccio da 1000 ml 1,11 g di calcio clorurato e portato a volume con H_2O .

Il campione di roccia, a temperatura ambiente, è stato polverizzato mediante mortaio d'agata e successivamente 10 g del suddetto campione di sedimento sono

stati trasferiti in un bicchiere da 50 ml con 25 ml di soluzione salina ed il tutto agitato per due ore con un agitatore magnetico.

La sospensione è stata lasciata sedimentare per alcuni minuti ed in fine è stato introdotto il sistema elettrodico nel surnatante e rilevato il valore di pH.

Metodica riportata da Peech (1965), Conyers & Davey (1988) e Davey & Conyers (1988).



Figura 23 Determinazione del pH

5.3 Determinazione dell'umidità totale della roccia

L'umidità totale è stata determinata mediante il metodo gravimetrico.

Tale metodo consiste, inizialmente, nel portare a peso costante in stufa a 105°C, una capsula di porcellana o altro recipiente di vetro, successivamente si pesano 50 – 100 g di roccia fresca e si pone in stufa ad una temperatura di 105 °C per 12 – 24 ore. Il campione asciutto viene fatto raffreddare in essiccatore e pesato mediante bilancia elettronica di precisione.

L'umidità totale viene calcolata secondo la seguente formula:

$$U_t = \frac{P_u - P_s}{P_u} \times 100$$

dove:

U_t = umidità totale %

P_s = peso del campione dopo essiccamento in stufa

P_u = peso del campione umido.

5.4 Determinazione del Coefficiente di imbibizione

Il Coefficiente d'imbibizione è stato determinato applicando la metodica CNR BU n. 137/92. Un campione di roccia del peso 40 – 50 g viene fatto essiccare in stufa alla temperatura di 110 ± 5 °C per 24h.

Al termine delle 24h il campione, tolto dalla stufa, viene fatto raffreddare all'interno di un essiccatore per 2h.

Una volta raffreddato, viene pesato e posto in un becher dove verrà aggiunta acqua fino a coprire totalmente il campione.

Il becher, con il campione sommerso d'acqua, viene posto per 2h in una camera a tenuta stagna dove verrà creato il vuoto tramite opportuna pompa.

Al termine delle 2h, il campione viene rimosso dall'apparato, viene posto su un staccio da 2mm di apertura e lasciato a sgocciolare per 10 min.

Infine il campione umido viene pesato tramite bilancia elettronica di precisione.

Il coefficiente di imbibizione C_i viene determinato mediante la seguente formula:

$$C_i = \frac{m_1 - m_2}{m_2} \times 100$$

dove:

C_i = Coefficiente di imbibizione

m_1 = peso del campione umido, in g

m_2 = peso del campione secco, in g

5.5 Analisi mineralogiche

Per le analisi mineralogiche è stata utilizzata un aliquota pari ad 1g di sedimento precedentemente essiccato e polverizzato in un mortaio d'Agata. Per la determinazione delle fasi mineralogiche nei campioni di sedimento è stato utilizzato il Diffrattometro a Raggi X D8 Advance della Bruker (Figura 24) fornito di generatore di RX con tubo di Cu e detector allo stato solido (SOL-X energy dispersive detector) per analisi con elevata risoluzione di energia (intensità dei picchi) e basso rumore di fondo (noise). L'analisi semiquantitativa

delle fasi mineralogiche in ogni campione è stata determinata secondo il metodo ed i dati riportati in Schultz (1964) e Barahona et al. (1982).



Figura 24 Diffrattometro a raggi X

5.6 Determinazione dell'umidità totale della paglia

L'umidità totale è stata determinata mediante il metodo gravimetrico.

Tale metodo consiste, inizialmente, nel portare a peso costante in stufa a 105 °C, una capsula di porcellana o altro recipiente di vetro, successivamente si pesano 5 – 10 g di paglia umida e si pone in stufa ad una temperatura di 105°C per 12 – 24 ore. Il campione asciutto viene fatto raffreddare in essiccatore e pesato mediante bilancia elettronica di precisione.

L'umidità totale viene calcolata secondo la seguente formula:

$$U_t = \frac{P_u - P_s}{P_u} \times 100$$

dove:

U_t = umidità totale %

P_s = peso del campione dopo essiccamento in stufa

P_u = peso del campione umido.

5.7 Monitoraggio in continuo par la caratterizzazione del microclima delle fosse

Il monitoraggio del microclima delle fosse oggetto di studio è stato effettuato utilizzando la strumentazione messa a disposizione dall'IAMC-CNR di Capo Granitola e dalla Sezione "Geobiologia, patrimonio culturale e analisi del paesaggio" del Dipartimento di Scienze della Terra, della Vita e dell'Ambiente dall'Università di Urbino. Tale strumentazione comprende (Figura 25):

- Centralina Meteo;
- Sensori di temperatura ed umidità relativa;
- Scheda di conversione segnale A/D;
- Mini PC;
- Modem UMTS/GPRS;
- UPS.

Tutto il sistema è gestito da tre differenti Software: "Weather Link" che gestisce i dati della centralina meteo; un software creato appositamente per l'acquisizione dei dati dei sensori all'interno della fossa; "Time Viewer" che consente il controllo remoto del Pc preposto all'acquisizione e storing dei dati.

Grazie al sistema di remote control è stato possibile eseguire il download dei dati con cadenza settimanale. Questo sistema, inoltre, ha consentito di effettuare un'elaborazione preliminare dei dati e monitorare le dinamiche microclimatiche che si sviluppano all'interno di entrambe le fosse.

In ogni fossa sono stati installati due sensori di temperatura e umidità relativa posizionati uno sul fondo della fossa ed uno in superficie.

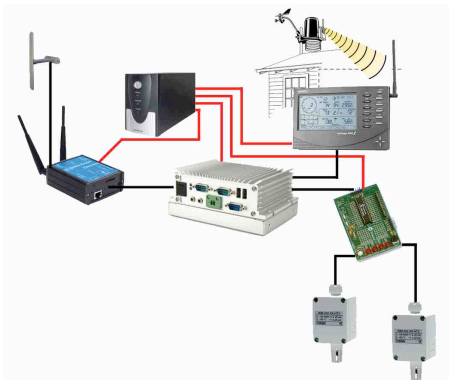


Figura 25 Schema strumentazione monitoraggio fosse

5.8 Analisi chimiche e chimico-fisiche su campioni di latte e formaggio

5.8.1 Determinazione del contenuto di acqua, ceneri e pH

Il contenuto di acqua libera nei campioni è stato determinato mediante essiccamento in stufa a 105 °C di una aliquota di campione, fino al raggiungimento del peso costante. La percentuale di acqua libera presente nei campioni è stata determinata mediante la seguente formula:

$$\begin{aligned}\% \text{ secco} &= \text{pf/pi} \times 100 \\ \% \text{ H}_2\text{O} &= 100 - \text{peso secco}\end{aligned}$$

(A.O.A.C.,1990; *Official methods of analysis. 15 Ed. A.O.A.C; Washington D.C., U.S.A.*).

Per la determinazione delle ceneri i campioni sono stati essiccati, carbonizzati e calcinati in muffola a 525±25 °C (Figura 26), il peso ottenuto dopo la calcinazione rappresenta il contenuto in ceneri.

Di seguito viene riportata la formula per il calcolo della % di ceneri:

$$\text{Tenore \% in ceneri} = \frac{M2-m}{M1-m} \times 100$$

dove:

m= massa in g della capsula.

M1= massa in g della capsula + campione.

M2= massa in g della capsula + ceneri.

Metodi di Analisi Chimica dei prodotti alimentari, (Balestrieri-Marini, 1996).



Figura 26 Muffola

La determinazione del pH è stata eseguita per via potenziometrica; in una beuta da 200 ml sono stati posti 10 g di campione; al quale sono stati aggiunti 100 ml di H₂O distillata (precedentemente portata ad ebollizione) sotto agitazione su piastra magnetica per 15 min.

La sospensione è stata centrifugata per 5 min, dopodiché si è lasciato separare il surnatante per decantazione. La fase finale ha riguardato la misurazione del pH impiegando un pHmetro da banco.

Metodi di Analisi Chimica dei prodotti alimentari, (Balestrieri-Marini, 1996).

5.8.2 Determinazione delle proteine totali

La determinazione delle proteine totali del latte e del formaggio è stata effettuata con il metodo Kjeldahl (A.O.A.C., 1990). Il campione è digerito all'interno dell'apposito provettone (Figura 27), con l'aggiunta di 10 ml di H₂SO₄ al 96%, 5 ml di H₂O₂ al 30% e un catalizzatore a base di solfato di rame pentaidrato e mineralizzato ad alte temperature (Figura 28) per eliminare tutti i materiali organici.

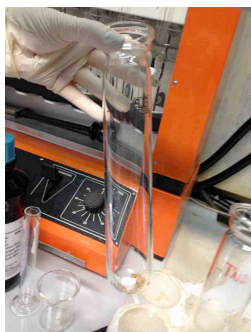


Figura 27 Provettone con campione



Figura 28 Mineralizzatore

Al campione raffreddato sono stati aggiunti 50 ml di acqua distillata e 50 ml di NaOH al 30%. Si è proceduto quindi con la distillazione (Figura 29), recuperando l'ammoniaca formatasi in una beuta contenente 25 ml di acido borico 1% e un indicatore misto, e una titolazione con HCl 0,1 N.

La percentuale di proteine totali è stata calcolata usando fattore di conversione di 6,25. (*Metodo Kjeldahl, A.O.A.C., 1990*)

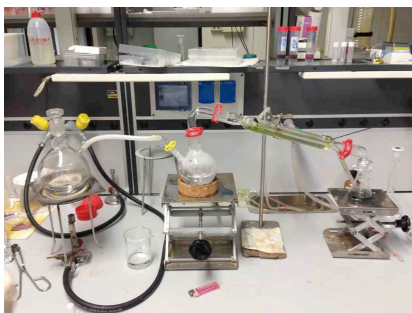


Figura 29 Apparato per la distillazione

5.8.3 Determinazione del cloruro

Il dosaggio dei cloruri è determinato mediante il metodo argentometrico di Mohr. Circa 2 grammi di campione essiccato ed omogeneizzato sono posti in agitazione in 40 ml di acqua bidistillata per 2 ore. Si centrifuga per 10 minuti a 4000 RPM e si trasferisce, filtrando, in un matraccio tarato da 50 ml. Si misura il pH e si aggiusta con NaOH 0.1 N fino a pH 8.0.

La prova del bianco si esegue titolando 20 ml di acqua bidistillata con 5 gocce di indicatore K_2CrO_4 5%, la miscela è quindi titolata con nitrato di argento 0.1 N fino al viraggio.

Per la titolazione vengono posti in una beuta 20 ml di campione ai quali si aggiungono 5 gocce di indicatore e si titola con nitrato di argento fino al viraggio.

(Fundamentals of Analytical Chemistry, 7^o Edition, Thompson Learning, Inc, USA, Skoog et al., 1996).

5.8.4 Estrazione dei lipidi totali dal latte

L'estrazione dei lipidi totali del latte è stata effettuata facendo riferimento alla metodica riportata da Stefanov et al., (2010). Circa 30 g di campione sono stati messi a contatto con una soluzione di estrazione costituita da diclorometano-etanolo in proporzione 2:1 (v/v), agitata al vortex per 90 secondi e centrifugata per 10 min a 5000 RPM. Il surnatante viene rimosso e l'estrazione viene ripetuta per altre due volte. Le fasi organiche sono state riunite ed il solvente rimosso mediante evaporatore rotante (Mod. Hei Vap Value; Heidolph, Schwabach, Germany). La percentuale di lipidi totali è stata determinata applicando la seguente formula:

$$\% \text{ lipidi} = \text{pf/pi} \times 100$$

(*A novel procedure for routine milk fat extraction based on dichlorometane. I. Stefanov et al., 2010*);

5.8.5 Estrazione dei lipidi totali dal formaggio

L'estrazione dei lipidi totali del formaggio è stata effettuata secondo i Metodi Ufficiali dell'Analisi dei formaggi (D.M. 1986) come riportato da Romano et al., (2011). Circa 12 grammi di campione sono stati omogeneizzati e posti in beute a contatto con 40 ml di HCl al 25 % e 40 ml di alcol etilico al 95 %. E' stata miscelata ulteriormente all'ultraturrax e, successivamente, posta in agitazione a 50 °C, su piastra magnetica per 30 min (Figura 30).



Figura 30 Fase di preparazione (Estrazione dei lipidi dal formaggio)

Dopo che il campione si sia raffreddato, si aggiungono 100 ml di n-eptano/ etere dietilico (1:2 v/v) e si lascia in agitazione a freddo per 15 min (Romano et. al., 2011). Dopodiché si lascia riposare per circa 10 min in modo da permettere la separazione di fase (Figura 31). Si preleva il surnatante e si ripete l'estrazione per altre due volte. Infine la soluzione è stata portata a secco in evaporatore rotante (Figura 32) per allontanare il solvente (n-eptano/etere dietilico). La componente lipidica viene recuperata in palloncini e posta in essiccatore per circa 24 h. La percentuale di lipidi totali è stata calcolata attraverso la seguente formula:

$$\% \text{ lipidi totali} = \text{pf/pi} \times 100.$$

Dove:

pf, peso finale

pi, peso iniziale.

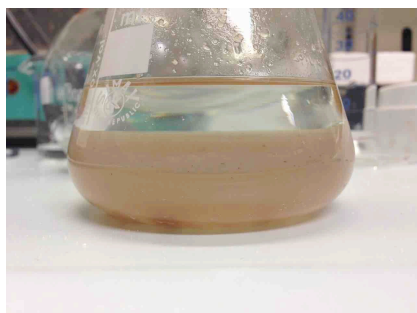


Figura 31 Separazione di fase



Figura 32 Evaporatore rotante

5.8.6 Analisi degli acidi grassi dell'estere metile

La determinazione del profilo acido è stata effettuata secondo i Metodi Ufficiali dell'Analisi dei formaggi (D.M. 1986) come riportato da Romano et al., (2011). Partendo dai trigliceridi che sono esteri della glicerina legati a catene di acidi grassi otteniamo esteri metilici che hanno, rispetto agli acidi grassi, una minore acidità, una minore polarità e punto di ebollizione. A questo punto si sostituisce il legame con la glicerina con un gruppo metilico. Sono stati pesati 2 g di olio, posti in tubi con tappo a vite (Figura 33) a contatto con 2 ml di una soluzione metanolica di HCl 3M, a 90 °C per 60 min. Dopo rapido raffreddamento sono stati aggiunti 3 ml di acqua distillata e 2 ml di n-esano (AOAC 996.06). Dopo agitazione con vortex e centrifugazione, la fase esanica è stata utilizzata per l'analisi gas-cromatografica degli acidi grassi dell'estere metile. Il profilo acido è stato determinato con un Trace GC Ultra (Thermo Scientific, Milano) equipaggiato con un rivelatore a ionizzazione di fiamma (FID) e colonna capillare SP-2560 (poly-biscyanopropylsiloxane, 100 m x 0.25 mm x 0.20 μ m, Supelco) (Figura 34). L'elio è stato usato come gas di trasporto con una portata costante di 1,5 ml min⁻¹. I campioni sono stati introdotti attraverso un sistema di iniezione "split-splitless" in modalità split (rapporto 1:100), usando un autocampionatore AS 3000 (Thermo Scientific, Milano). Le condizioni operative corrispondono a quelle seguite da Al-Khalifa (1996).

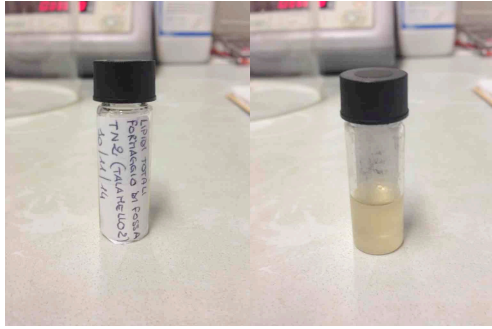


Figura 33 Campione sottoposto ad analisi



Figura 34 Trance GC Ultra

5.9 Analisi microbiologiche

In condizioni sterili, sotto cappa a flusso laminare (Steril, VBH) sono stati prelevati, dalla parte centrale dei formaggi, 10 g di campione, posti in sacchetti per stomacher sterili, addizionati con 90 ml di soluzione Ringer sterile e sottoposti ad omogeneizzazione in Stomacher (Lablender 400 Seward, PBI). Dagli omogeneizzati ottenuti sono state realizzate le diluizioni decimali per la semina in piastra su diversi substrati culturali. Dalle diluizioni opportune è stato prelevato 1 ml di sospensione per la semina per inclusione in piastre contenenti PCA sterile (PlateCount Agar), ed incubate a 28 °C per 72 ore, per determinare la Carica Microbica Totale (CMT); in piastre contenenti MRS e M17 agar ed incubate in giare contenenti il kit per l'anaerobiosi a 28 °C per 72 ore, per l'isolamento della microflora lattica coccica e bastoncellare; in piastre di SPS agar ed incubate in anaerobiosi a 28 °C per 5 giorni, per isolare i batteri solfito-riduttori; in piastre di VioletRed Bile Glucose agar e di VioletRed Bile Lactose Agar (Oxoid) incubate a 36 e 44 °C per 48 ore, per la ricerca dei Coliformi Totali e dei Coliformi Fecali. Mentre, con la tecnica della semina per spatolamento sono stati seminati 100 µl di sospensione su piastre di Mannitol Salt agar ed incubate a 28 °C per 3-5 giorni, per la ricerca della flora stafilococcica e micrococcacea; su piastre di YPD (estratto di lievito; peptone batteriologico; destrosio; agar) ed incubate a 28 °C per 3-5 giorni, per la ricerca di lieviti e muffe.

Tutti i substrati nutritivi completi e selettivi e i Kit per l'anaerobiosi utilizzati provengono dalla ditta Oxoid, (Rodano, Italia).

La conta batterica è stata effettuata sulle piastre che contenevano un numero di colonie compreso tra 15 e 300, i valori ottenuti sono stati espressi come UFC/g, (Unità Formanti Colonie) su grammo di campione.

5.10 Determinazione del profilo delle molecole volatili

L'estrazione dei composti volatili è stata realizzata mediante Gascromatografia accoppiata alla spettrometria di massa (SPME-GC/MS) con tecnica SPME. 5 grammi di campione sono stati pesati in vials da 20 ml (Figura 35) e i composti volatili (VOCs) sono estratti dai campioni mediante una fibra DVB/CAR/PDMS, posta per 45 min in fiala riscaldata a 45 °C per raccogliere le molecole del campione nello spazio di testa.

L'analisi dei composti volatili è stata effettuata utilizzando un gascromatografo accoppiato ad uno spettrometro di massa GC/MS Agilent 7890A/5975C con auto campionatore Gerstel MPS2 (Figura 36), utilizzando una colonna capillare Innowax (30 m x 0.250 mm x 0.5 µm) e la seguente programmata di temperatura: 40 °C per 2 min, 5 °C/min a 230 °C per 10 min. Gli analiti sono stati identificati mediante confronto con i dati della libreria WILEY/NIST. Le analisi sono state condotte in triplicato ed i risultati espressi come RAP (Relative Peak Area).

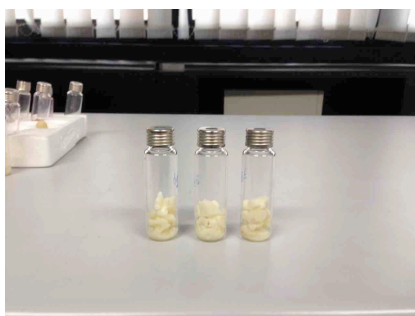


Figura 35 Campione sottoposto ad analisi



Figura 36 GC/MS Agilent

5.11 Analisi statistiche

I dati ottenuti dalle analisi condotte sui formaggi (contenuto di umidità, cenere, pH, lipidi e cloruro di sodio) sono stati sottoposti ad elaborazioni statistiche attraverso l'uso del software Statistica v. 10 (Statsoft, Tulsa, USA).

Per valutare la presenza o meno di variazioni chimico-fisiche dei formaggi durante la produzione e le varie fasi di stagionatura è stata applicata l'analisi della varianza per misure ripetute (RM ANOVA). Una volta verificata la significatività dell'ANOVA, è stato applicato il metodo di Holm-Sidak per stabilire quali coppie differiscono tra loro.

Infine, per valutare le variazioni degli acidi grassi nel tempo (fasi di stagionatura) e nello spazio (fosse differenti e posizione dei formaggi all'interno della fossa) è stato utilizzato il test di Kruskal-Wallis.

Le medie e le deviazioni standard sono state calcolate con Microsoft Office Excel 2016.

6 Risultati e discussioni

In questo lavoro è stata analizzata la stagionatura del formaggio (durata 77 giorni) in due fosse diverse in modo da verificare l'influenza dell'ambiente sulle caratteristiche chimiche, chimico-fisiche e nutrizionali (Gobbetti et al., 1999) del prodotto caseario definitivo. I risultati riportati sono una media delle tre posizioni che roccia, paglia e formaggi occupano nella fossa: in alto, nel mezzo e al fondo. Si è optato per un valore medio, in quanto i risultati hanno messo in evidenza una bassa variabilità nei parametri misurati appunto nelle tre quote. Per comparazione, sono stati analizzati le rocce e la paglia delle due fosse; il latte iniziale; il formaggio cagliato; il formaggio stagionato per due mesi in caseificio e quello stagionato dopo 77 giorni all'interno delle due fosse.

6.1 Analisi Macro e Microscopica della roccia

Le analisi macroscopiche e microscopiche, eseguite sulle sezioni sottili dei campioni di Talamello e Cartoceto, hanno messo in evidenza una sostanziale differenza tra le due litologie, sia in termini di dimensione che di composizione dei granuli costituenti le due sedimentazioni; tutto ciò in accordo con il lavoro di Conti S., et al., 1989.

Il campione prelevato nella fossa di Talamello (Figure 37, 39) è rappresentato da un'arenaria ben cementata a grana media, di colore grigiastro, costituita da clasti quasi tutti della stessa taglia.

Nel caso del campione prelevato nella fossa di Cartoceto (Figure 38, 40), si tratta di un'arenaria poco cementata, a grana da media a media-grossolana, costituita da clasti di diverse dimensioni e intercalazioni di sottili livelli pelitici che gli conferisce un colore giallastro con evidenti venature di colore grigio.



Figura 37 Campione Fossa Talamello



Figura 38 Campione Fossa Cartoceto

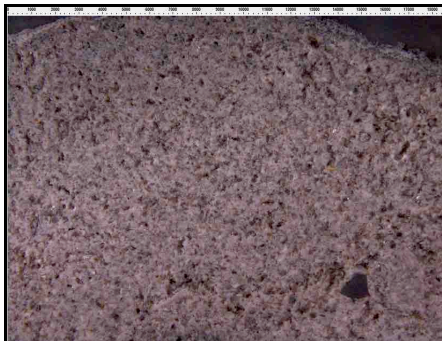


Figura 39 Roccia Talamello ingrandimento

7.5X



Figura 40 Roccia Cartoceto ingrandimento

7.5X

6.2 pH roccia, latte e formaggio

Le misure di pH effettuate nelle matrici roccia, latte e formaggio (Figura 41 e Figura 42) hanno messo in evidenza una diminuzione del pH che passa da un valore di 6,51 del latte, a pH 5,43 del formaggio cagliato (Ft0). Tale valore rimane simile dopo che il formaggio viene stagionato in caseificio per 60 giorni ed equivale a pH 5,42 (Ft1).

I valori di pH della roccia di entrambe le fosse, prima dell'infossatura del formaggio, sono quasi uguali, RT0=7.82 Fossa di Talamello e RC0=7.81 Fossa di Cartoceto indicando un ambiente di stagionatura leggermente basico.

Il formaggio stagionato 77 giorni nella fossa di Talamello mantiene lo stesso valore di pH del formaggio stagionato 60 giorni in caseificio (pH 5.42), leggermente diverso risulta il valore di pH dei formaggi stagionati 77 giorni nella fossa di Cartoceto, pH 5.19.

I campioni di roccia prelevati dopo la sfossatura hanno mostrato, per entrambe le fosse, una leggera diminuzione dei valori di pH, (RT1=7.58 roccia Talamello e RC1= 7.45 roccia Cartoceto), ma registrando sempre un ambiente leggermente basico.

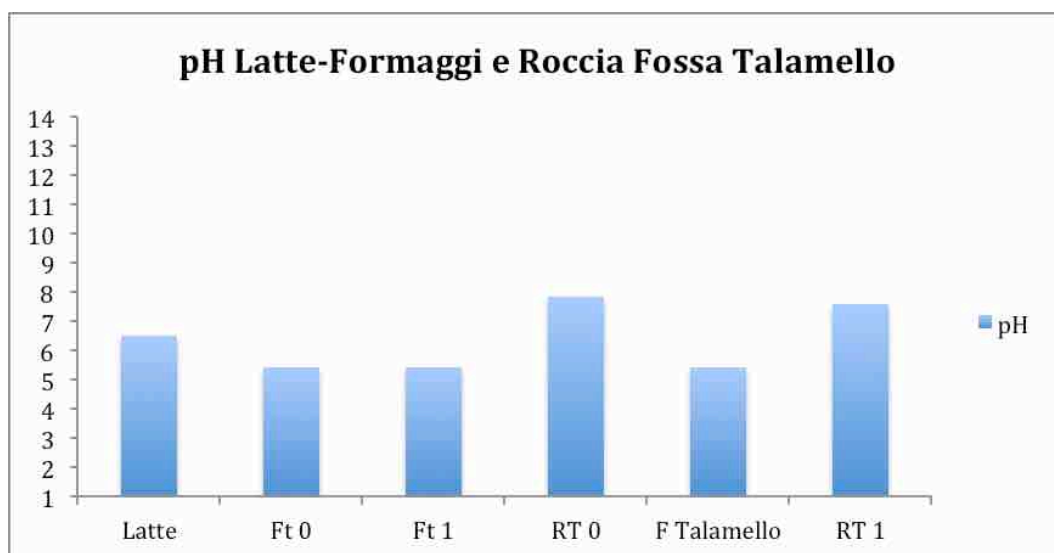


Figura 41. Comparazione dell'andamento del pH tra i formaggi e la roccia prima e dopo la sfossatura

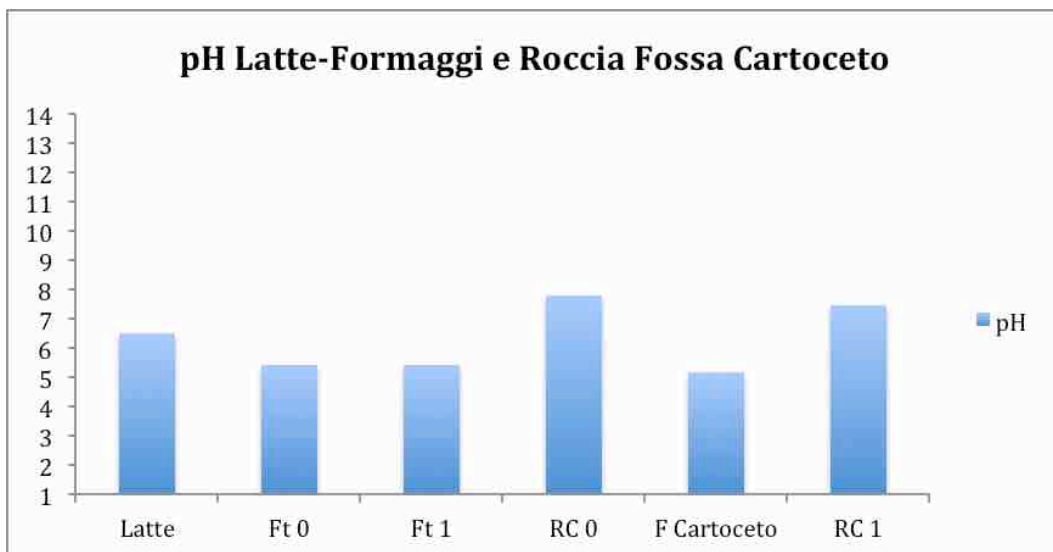


Figura 42. Comparazione dell'andamento del pH tra i formaggi e la roccia prima e dopo la sfossatura

6.3 Contenuto d'acqua nella roccia, paglia, latte e formaggi

Il contenuto d'acqua nelle matrici latte e formaggio, varia notevolmente, si passa da un valore di 83% di H₂O presente nel latte al 42,3% presente nel formaggio appena cagliato (Ft 0). Il dimezzamento del contenuto d'acqua, in questa fase, è dato dal processo di trasformazione casearia.

Dopo 60 giorni di stagionatura in caseificio, a temperatura ed umidità costante, il formaggio (Ft 1) fa registrare una nuova diminuzione del contenuto d'acqua presentando un valore pari al 35,5%, tale diminuzione è dovuta alla fase di stagionatura.

La fossa di Talamello, prima dell'infossatura del formaggio, presenta un contenuto d'acqua nella roccia (RT0) pari al 7,1% e nella paglia (PT0) pari al 8,5%. Dopo 77 giorni di stagionatura del formaggio al suo interno il contenuto d'acqua della roccia (RT1) diminuisce, facendo registrare un valore pari al 3,1%, quello della paglia (PT1) aumenta, facendo registrare un valore pari al 36,9% e quello del formaggio (F Talamello) diminuisce leggermente, facendo registrare un valore pari al 34,3%. La paglia, nella fossa di Talamello, ha assorbito umidità sia dal formaggio che dalla roccia (Figura 43).

La fossa di Cartoceto, prima dell'infossatura del formaggio, presenta un contenuto d'acqua nella roccia (RC0) pari al 2,9% e nella paglia (PC0) pari al 8,7%. Dopo

77 giorni di stagionatura del formaggio al suo interno il contenuto d'acqua della roccia (RC1) aumenta facendo registrare un valore pari al 13,2%, quello della paglia (PC1) aumenta facendo registrare un valore pari al 22,6% e quello del formaggio (F Cartoceto) diminuisce leggermente facendo registrare un valore pari al 32,6%. Sia la paglia che la roccia, nella fossa di Cartoceto, hanno assorbito umidità dal formaggio (Figura 44).

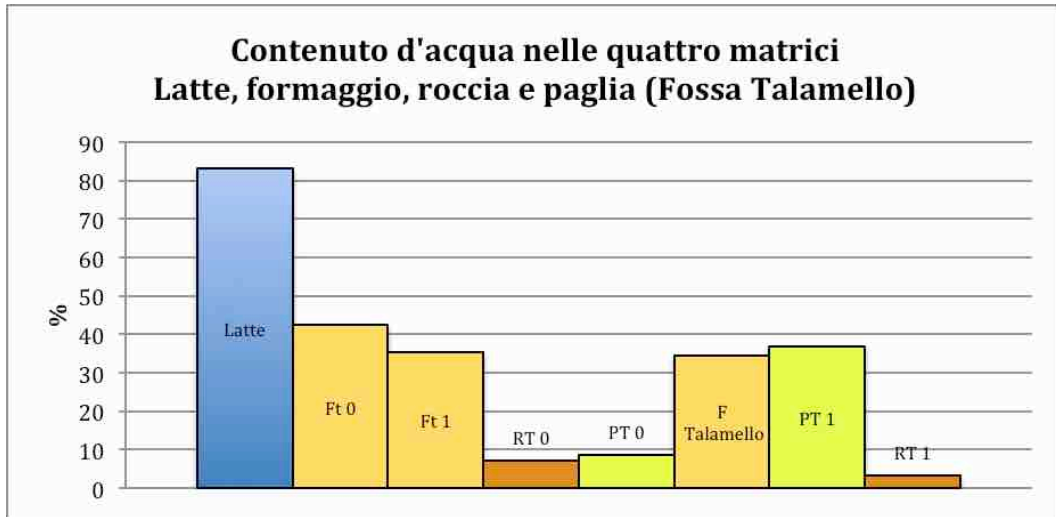


Figura 43 Comparazione del contenuto d'acqua tra: latte, formaggio, paglia e roccia - Prima e dopo la stagionatura in fossa

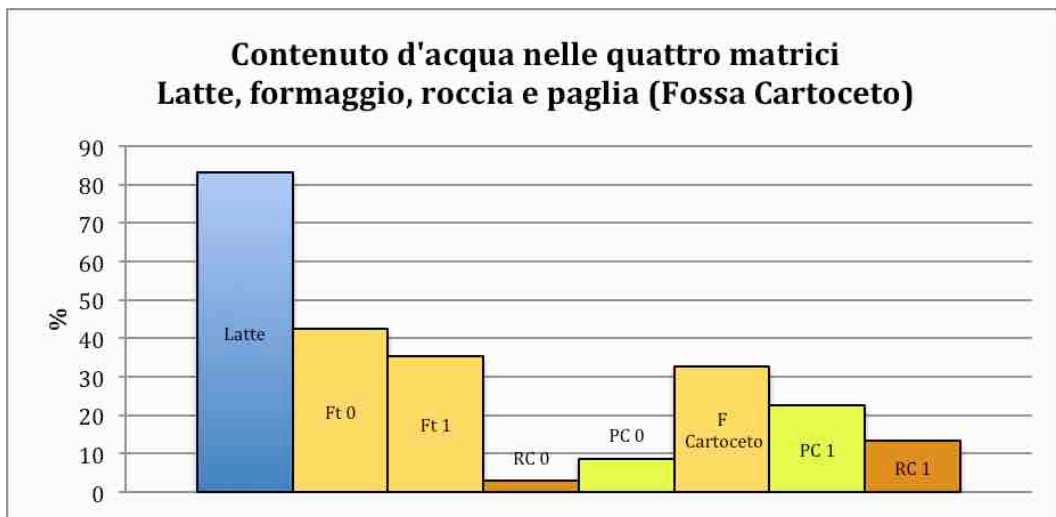


Figura 44 Comparazione del contenuto d'acqua tra: latte, formaggio, paglia e roccia - Prima e dopo la stagionatura in fossa

6.4 Proprietà di imbibizione della roccia

Per coefficiente di imbibizione si intende la quantità d'acqua che un campione di roccia può assorbire in determinate condizioni di saturazione, espressa come percentuale relativa al peso del campione essiccato.

La prova effettuata sui due campioni di roccia, uno prelevato nella fossa di Talamello e uno prelevato nella fossa di Cartoceto, ha messo in evidenza la diversa capacità di assorbimento dei due campioni (Tabella 1).

La prova, effettuata sul campione prelevato nella fossa di Talamello (RT), ha dato un coefficiente di imbibizione (C_i) pari a 9,53% della massa secca iniziale della roccia, invece, quella effettuata sul campione prelevato nella fossa di Cartoceto (RC), ha dato un coefficiente di imbibizione (C_i) pari a 24,44% della massa secca iniziale della roccia.

Questa diversa capacità di assorbire acqua può essere riconducibile al diverso grado di cementazione, alla diversa dimensione e forma dei clasti e al diverso grado di porosità dei due campioni di roccia analizzati.

Tabella 1. Dati della prova per la determinazione del coefficiente di imbibizione

Campione	Peso secco (gr)	Peso saturo (gr)	Imbibizione (%)
RT	41,55	45,51	9,53
RC	48,49	60,34	24,44

6.5 Analisi mineralogiche

Le fasi mineralogiche individuate nel campione di roccia prelevato nella fossa di Talamello sono: Calcite magnesiacca; quarzo e plagioclasio; seguono K-feldspato e mica (Moscovite) come minerali secondari con percentuali che non superano l'8%, mentre i minerali argillosi rappresentano minerali accessori (Figura 45).

Il campione di roccia prelevato nella fossa di Cartoceto presenta le seguenti fasi mineralogiche: Calcite magnesiacca; mica (Muscovite) e quarzo; segue il plagioclasio come minerale secondario con percentuale non superiore all'9%, mentre minerali argillosi, dolomite e K-feldspato rappresentano minerali accessori (Figura 46).

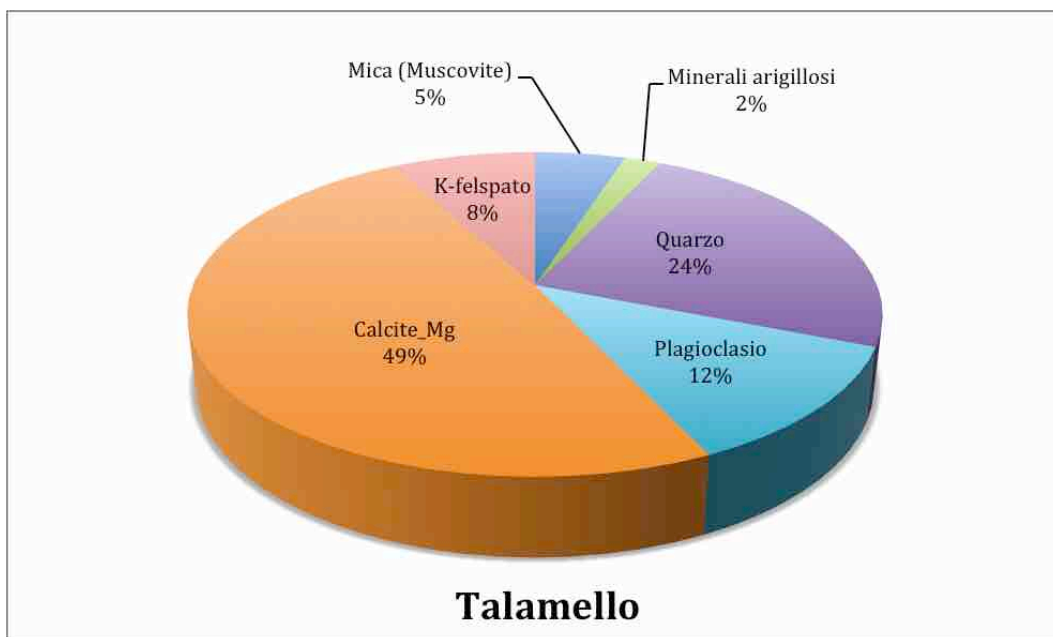


Figura 45. Percentuali medie delle fasi mineralogiche che caratterizzano la roccia della fossa di Talamello

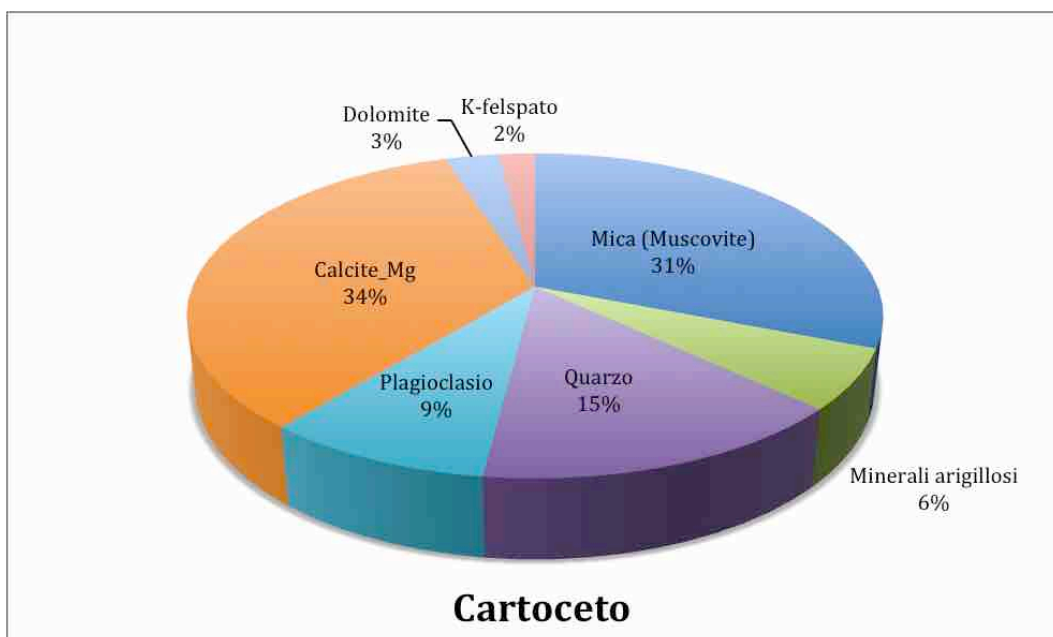


Figura 46. Percentuali medie delle fasi mineralogiche che caratterizzano la roccia della fossa di Cartoceto

6.6 Microclima delle fosse

Il monitoraggio per la caratterizzazione del microclima delle due fosse oggetto di studio è durato per tutto il periodo di stagionatura dei formaggi nelle relative fosse e specificatamente dal 05/08/2014 al 21/10/2014 (77 giorni) per la Fossa Talamello (Figura 47) e dal 07/08/2014 al 23/10/2014 (77 giorni) per la Fossa Cartoceto (Figura 49).

Questo studio ha permesso di comprendere come le due fosse, dal punto di vista microclimatico, si comportano in modo differente e come le condizioni climatiche delle due zone (Figura 48 e Figura 50), monitorate con stazioni meteo, non influiscono con il comportamento microclimatico delle fosse.

Fossa Talamello.

La temperatura, sia nella parte bassa che nella parte alta, si mantiene costante con valori di 18 °C nella parte bassa e di 20/21 °C nella parte alta.

In maniera differente si comporta l'umidità: nella parte bassa della fossa, all'inizio del monitoraggio, si registra un valore del 88 % che va gradualmente crescendo fino a raggiungere il valore massimo registrato pari al 90 % al 9° giorno di monitoraggio. Tale valore si mantiene costante per 17 giorni e dal 27° giorno in poi comincia a decrescere gradualmente fino a registrare il valore di 85 % di umidità al momento dell'apertura della fossa che segna la conclusione della stagionatura e del monitoraggio.

Nella parte alta, all'inizio del monitoraggio, si registra un valore di 88 % di umidità che va gradualmente crescendo fino a raggiungere il 96 % dopo 7 giorni di monitoraggio. Tale valore, che si mantiene costante per 6 giorni, ricomincia a crescere fino a raggiungere il 98 % di umidità al 16° giorno di monitoraggio e si mantiene costante per 13 giorni. Il valore massimo pari al 99 % viene registrato al 30° giorno di monitoraggio e tenderà a diminuire leggermente 11 giorni prima dall'apertura della fossa, registrando un valore di umidità pari al 98 %.

Fossa Cartoceto.

Nella Fossa di Cartoceto, all'inizio del monitoraggio, la temperatura nella parte bassa è di 12,3 °C e comincia gradualmente a salire fino a raggiungere la temperatura di 22 °C al 33° giorno di monitoraggio. Tale temperatura si mantiene costante per 12 giorni, al 46° giorno di monitoraggio inizia leggermente a salire

fino a raggiunge il suo valore massimo di 23 °C al 71° giorno e resterà tale fino all'apertura della fossa.

La parte alta della fossa, all'inizio del monitoraggio, ha una temperatura di 16,8 °C e raggiunge il suo valore massimo pari a 27,2 °C in 9 giorni. Tale temperatura rimane costante per 39 giorni e dal 49° giorno in poi comincia a decrescere leggermente fino ad arrivare all'apertura della fossa con una temperatura pari a 24,5 °C.

L'umidità nella parte bassa, all'inizio del monitoraggio, ha un valore pari al 76 % e raggiunge il suo valore massimo del 88 % dopo 10 giorni. Tale valore comincia a decrescere fino ad arrivare al 86 % al 19° giorno e si mantiene costante per 19 giorni. Dal 39° giorno in poi comincia a decrescere gradualmente fino ad arrivare all'apertura della fossa con un valore di umidità pari al 80 %.

Nella parte alta, all'inizio del monitoraggio, l'umidità ha un valore pari al 87 % e aumenta fino ad arrivare al 98 % in 8 giorni. Tale valore si mantiene costante per 12 giorni e dal 21° giorno in poi comincia ad aumentare leggermente fino a raggiungere il suo valore massimo pari al 99 % il 34° giorno. Questo valore di umidità rimarrà costante per 18 giorni e dal 53° giorno in poi comincia a decrescere gradualmente fino ad arrivare all'apertura della fossa con un valore di umidità pari al 94 %.

Dal confronto delle variabili microclimatiche delle due fosse, si evince come per quanto riguarda l'umidità relativa, nella porzione alta della fossa, i valori registrati nei due siti abbiano un trend iniziale molto simile, mentre nella seconda parte della stagionatura i due valori si discostano in maniera evidente. Tali differenze, vanno ricercate nelle peculiarità geologico-tecniche dei terreni presenti nelle fosse. Infatti, a parere dello scrivente, nella fossa di Talamello, dove prevale una sedimentazione arenitica con granuli di dimensioni omogenee e con un basso indice di imbibizione, il microclima mostra un valore di umidità relativa pressoché costante, attestandosi su valori prossimi alla saturazione. Nella Fossa di Cartoceto la sedimentazione è di tipo arenitico a granulometria eterogenea, con intercalazioni di livelli pelitici, per cui l'indice di imbibizione è maggiore rispetto alla fossa di Talamello. Tale caratteristica, con buona probabilità, giustifica una diminuzione del valore di umidità relativa nella seconda fase di stagionatura, in

quanto i terreni costituenti le pareti della fossa stessa possono assorbire un maggiore volume d'acqua. Per la porzione più bassa delle due fosse, dalla osservazione dei grafici in Figure 47 e 49, si evince che, a parte la prima fase di stagionatura, i valori di umidità relativa hanno trend molto simili, pur registrando valori più elevati nel caso della fossa di Talamello. Tutto ciò a conferma dell'influenza della granulometria sul grado di umidità registrata in situ. La differenza, di umidità relativa registrata nella fase iniziale per la porzione più bassa delle fosse, è da imputare quasi certamente ad un aspetto prettamente logistico-tecnico che ha interessato la fase di infossamento. Infatti, nella fossa di Talamello i formaggi sono stati infossati dopo circa 12 ore dalla consegna da parte del caseificio. Nel caso di Cartoceto, gli stessi formaggi sono stati infossati subito dopo la consegna degli stessi. Pertanto, i formaggi della fossa di Talamello, rimasti più tempo esposti all'atmosfera locale, si sono arricchiti in umidità, giustificando quindi valori iniziali diversi tra le due fosse.

Per quanto attiene la temperatura, anche in questo caso, è possibile stabilire che le caratteristiche sedimentologiche dei materiali influenzino i trend registrati nelle due fosse. Infatti, nella fossa di Talamello dove si registra un valore di umidità più elevato tra le due fosse, legato alla litologia ivi affiorante, si registra un valore di temperatura più basso rispetto alla fossa di Cartoceto. Tale considerazione è estensibile sia alla parte bassa che alla parte alta delle due fosse (vedi Figure 47 e 49). Anche in questo caso, è possibile osservare come il ritardo nell'infossamento dei formaggi nella fossa di Talamello, possa avere influenzato la temperatura iniziale della fossa proprio perché il formaggio, rimasto in attesa di essere infossato, ha assorbito calore dall'ambiente circostante rilasciandolo poi all'interno della fossa. Infatti, si evidenzia come la temperatura iniziale per la quota più alta della fossa di Talamello sia stata di 20 °C, mentre nel caso di Cartoceto, alla stessa quota, si sia registrata una temperatura iniziale di 17 °C.

Tale differenza è ancora più marcata per la porzione più bassa delle due fosse. Infatti, a Talamello si registra una temperatura iniziale di 18 °C mentre nel caso di Cartoceto si registra una temperatura iniziale di 12 °C. Queste considerazioni confermano l'importanza della scelta di realizzare un sistema di monitoraggio in

continuo del microclima delle due fosse. I risultati infatti evidenziano come il microclima possa incidere sulle peculiarità chimico-fisiche del formaggio.

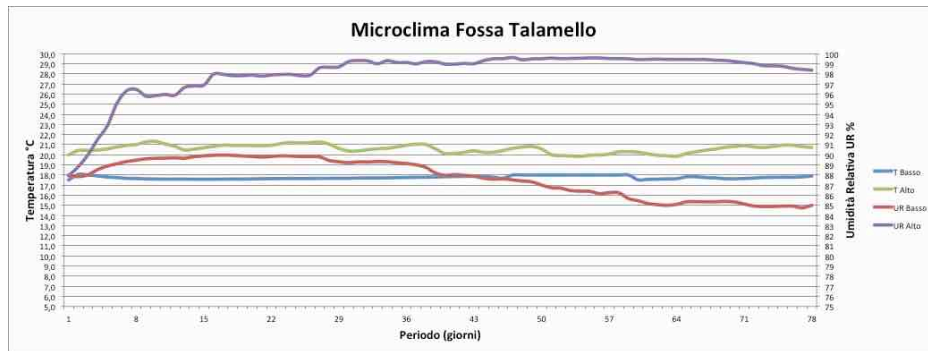


Figura 47 Microclima Fossa Talamello

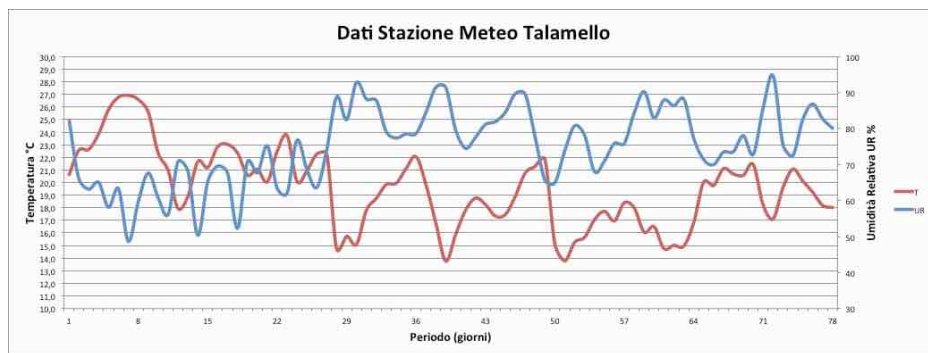


Figura 48 Dati Stazione Meteo – Talamello

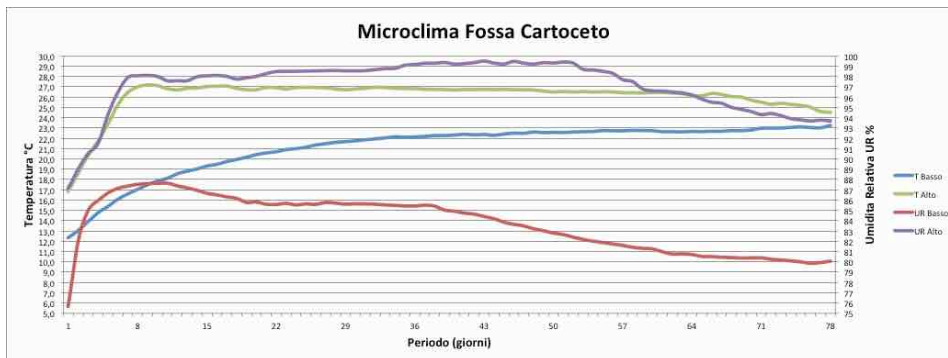


Figura 49 Microclima Fossa Cartoceto

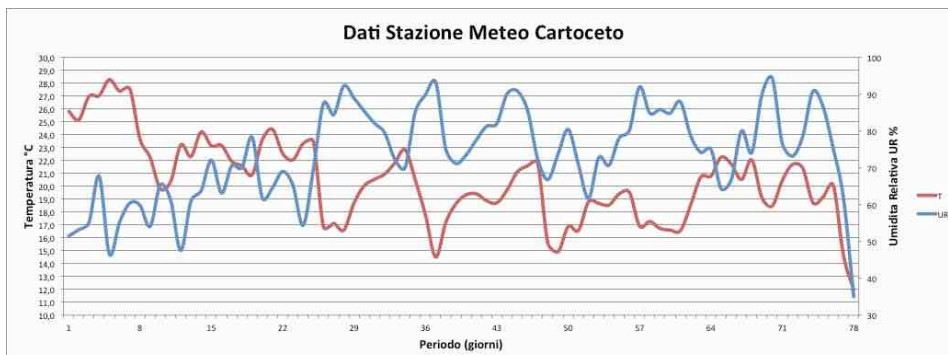


Figura 50 Dati Stazione Meteo – Cartoceto

6.7 Caratteristiche chimico-fisiche latte e formaggio

I valori medi (\pm SD) di umidità, lipidi, proteine, ceneri e sale dei campioni di Formaggio di Fossa sono mostrati nella Tabella 2.

La RM ANOVA ha mostrato delle differenze significative tra i trattamenti ($F = 11.032$ con 2 gradi di libertà, $P = 0.003$).

Il metodo Holm-Sidak ha mostrato delle differenze significative nel confronto tra il formaggio stagionato per sessanta giorni nel caseificio, formaggio stagionato nella fossa di Talamello ($P = 0.004$) e formaggio stagionato per 60 giorni nel caseificio, formaggio stagionato nella fossa di Cartoceto ($P = 0.027$); al contrario, non è stata riscontrata nessuna differenza significativa nel confronto tra “Il formaggio di Talamello” e “Il formaggio di Cartoceto” ($P > 0.05$). Il contenuto di proteine, lipidi, ceneri e NaCl nel formaggio dopo la stagionatura nelle due fosse aumenta significativamente rispetto a quello del formaggio stagionato per sessanta giorni in caseificio, ma non sono state registrate delle grosse differenze tra le due fosse.

La quantità di acidi grassi nei campioni di formaggio durante la sua produzione e la sua stagionatura, insieme con il risultato delle analisi di varianza sono mostrate nella Tabella 3. Sono state osservate delle significative differenze per quanto riguarda il contenuto di lipidi nei campioni di Formaggio di Fossa durante la sua produzione e la sua stagionatura ($F = 101.812$ con 20 gradi di libertà, $P \leq 0.001$). Per tutti i tipi di formaggio la maggior parte degli acidi grassi sono miristico (C14:0), palmitico (C16:0) e stearico (C18:0); tutti quanti hanno mostrato dei valori molto diversi ($P < 0.001$) da quelli della cagliatura. Inoltre, la stagionatura del formaggio nella Fossa di Talamello ha comportato dei valori alti di acidi grassi saturi rispetto al formaggio stagionato nella fossa di Cartoceto. E' stato identificato un totale di tre acidi grassi (MUFA) monoinsaturi: miristico (C14:1), palmitoleico (C16:1), e oleico (C18:1 n9c). Le più importanti differenze osservate nei MUFA sono state la forte diminuzione di questi ultimi durante la stagionatura, fino ai valori leggermente più alti del 15% raggiunti. Per quanto riguarda gli acidi grassi polinsaturi (PUFA) sono stati identificati solo quelli di tipo linoleico (C18:2 n6c) e linoleico (C18:3 n3), ma solamente C18:2 n6c è rimasto statisticamente diverso durante la stagionatura ($P < 0.001$). In particolare, il profilo degli acidi

grassi ha mostrato un incremento di percentuale di acido butirrico, caproico, caprilico e caprico nel formaggio dopo due mesi in caseificio e dopo la stagionatura nelle fosse, rispetto al formaggio solamente cagliato, confermando il fatto che gli acidi grassi a catena corta sono più soggetti al fenomeno di idrolisi; parallelamente si è verificata una diminuzione nella percentuale degli acidi grassi a lunga catena (oleico, linoleico, e acidi linoleici) nel formaggio dopo due mesi in caseificio e nel formaggio dopo la stagionatura nelle fosse, rispetto al formaggio solamente cagliato. I valori degli acidi grassi a lunga catena sono quasi costanti, eccetto per gli acidi oleico e palmitico, come suggerito dai vari autori (Nàjera et al., 1993; Olmedo & Coll-Hellin, 1976), i quali spiegano gli elevati valori per quanto riguarda gli acidi linoleico e linolenico. La somma degli acidi grassi saturi non ha mostrato nessuna differenza sostanziale tra i formaggi appena cagliati e quelli stagionati, anche se si è verificata una diminuzione di questi acidi nel formaggio cagliato. Invece, la somma dei MUFA, ha mostrato una diminuzione notevole dal 21.39% nel latte a circa il 16.70% nei formaggi stagionati. Probabilmente, questo è dovuto ad una forte diminuzione dei valori dell'acido oleico. Anche la somma dei PUFA e del rapporto tra le somme di PUFA e SFA è diminuito dopo la stagionatura nelle fosse in entrambi i siti. La stagionatura del formaggio è un importante processo della fabbricazione del formaggio, ed è caratterizzata da una serie di complessi cambiamenti fisici, chimici e microbiologici, che sono portati avanti da un pool di enzimi endogeni ed esogeni di latte come caglio e lipase, ma anche da enzimi microbici, come quelli coadiuvanti di avviamento e i contaminanti ambientali microbici (De Angelis 2001).

E' durante il suo processo di stagionatura che il formaggio acquisisce le sue caratteristiche uniche, quali il gusto, la consistenza e l'aroma. Il più grande contributo deriva dalle tre reazioni primarie che definiscono la stagionatura del formaggio: la glicolisi, la proteolisi e la lipolisi. In particolare, il contenuto di amminoacidi liberi nei formaggi di Fossa dipende dalle attività enzimatiche delle proteasi microbiche e dalle peptidasi (Corsetti et al., 1998; Gobbetti et al., 1997a).

Tabella 2 Valori medi, \pm deviazione *standard*, relativi alla composizione chimica del “Formaggio di Fossa” durante la sua produzione e la sua maturazione, ed il risultato di analisi della varianza.

	Latte	Ft 0	Ft 1	FT	FC	Significatività statistica
pH	6.51 \pm 0.02	5.43 \pm 0.04	5.42 \pm 0.01	5.42 \pm 0.27	5.19 \pm 0.15	ns
Umidità (%)	83.02 \pm 4.98 ^a	42.33 \pm 1.52 ^b	35.46 \pm 1.28 ^c	34.33 \pm 6.71 ^c	32.59 \pm 3.81 ^d	**
Lipidi (%)	5.76 \pm 0.97 ^a	28.41 \pm 1.59 ^b	33.65 \pm 2.71 ^c	33.76 \pm 1.58 ^c	34.65 \pm 1.48 ^d	*
Proteine (%)	5.48 \pm 0.10 ^a	18.66 \pm 3.33 ^b	24.92 \pm 2.55 ^c	27.33 \pm 4.32 ^d	27.45 \pm 3.36 ^d	*
Ceneri (%)	0.40 \pm 0.32 ^a	2.94 \pm 0.45 ^b	3.73 \pm 0.70 ^c	5.74 \pm 0.40 ^d	5.83 \pm 0.45 ^d	*
g NaCl/100 g	0.00 \pm 0.00 ^a	1.29 \pm 0.00 ^b	3.17 \pm 0.01 ^c	4.50 \pm 0.37 ^d	4.70 \pm 0.34 ^d	*

Dati medi per i tre lotti di formaggi di fossa, ottenuti con tre repliche;

a, b, c, d: la contemporanea presenza delle diverse lettere nella stessa riga indicano differenze statisticamente significative ($P < 0,05$);

ns = non significativo, * $P < 0,05$; ** $P < 0,01$.

Ft 0 (formaggio appena cagliato), **Ft 1** (formaggio stagionato sessanta giorni in caseificio), **FT** (formaggio stagionato nella fossa di Talamello), **FC** (Formaggio stagionato nella fossa di Cartoceto).

Tabella 3 Concentrazioni degli acidi grassi nel Formaggio di fossa, calcolati durante la filiera di produzione e la maturazione dello stesso.

	Latte	Ft 0	Ft 1	FT	FC	Significatività statistica
Acido butirrico C4:0	1.80	0.68	1.33	2.10	1.76	**
Acido Caproico C6:0	1.92	1.04	1.61	2.17	1.77	**
Acido caprilico C8:0	1.96	1.42	1.92	2.51	2.10	**
Acido Caprico C10:0	6.06	5.13	6.24	8.10	6.86	**
Acido laurico C12:0	3.49	3.13	3.56	4.39	3.89	**
Acido miristico C14:0	10.89	10.19	10.96	11.28	11.33	**
Acido miristoleico C14:1	0.16	0.14	0.55	0.20	0.22	*
Acido pentadecanoico C15:0	1.25	1.28	1.22	1.23	1.38	**
Acido palmitico C16:0	26.38	25.74	26.42	25.49	25.10	**
Acido palmitoleico C16:1	1.06	1.39	0.99	0.76	0.79	*
Acido eptadecanoico C17:0	0.78	0.87	0.83	0.73	0.83	*
Acido stearico C18:0	11.83	11.56	11.56	9.98	10.29	**
Acido oleico C18:1 n-9cis	20.17	21.89	21.03	15.43	15.92	**
Acido linoleico C18:2 n-6cis	2.24	2.44	2.37	1.89	1.80	**
Acido arachidico C20:0	0.34	0.40	0.39	0.28	0.33	*
Acido linolenico C18:3,n-3	1.47	1.54	1.44	0.89	1.15	ns
Σ -SFA	66.70	61.44	66.04	68.26	65.63	
Σ -MUFA	21.39	23.42	22.57	16.39	16.93	
Σ -PUFA	3.71	3.98	3.81	2.77	2.95	
Σ -PUFA/ Σ -SFA	0.06	0.06	0.06	0.04	0.04	
Acido oleico C18:1 n-9cis /	9.00	8.97	8.87	8.18	8.83	
Acido linolenico C18:2 n-6cis						

ns = non significativo, * $P < 0,05$; ** $P < 0,01$.

Ft 0 (formaggio appena cagliato), **Ft 1** (formaggio stagionato sessanta giorni in caseificio), **FT** (formaggio stagionato nella fossa di Talamello), **FC** (Formaggio stagionato nella fossa di Cartoceto).

6.8 Caratteristiche microbiologiche

I dati concernenti la popolazione microbica nei diversi campioni di Formaggio di Fossa sono mostrati nella Figura 51. In breve, nel formaggio stagionato per sessanta giorni la conta microbica mesofila totale (CMT) si aggira tra 10^9 e 10^8 UFC/g. Invece, la microflora lattica mesofila si aggira intorno ai 10^9 e 10^7 UFC/g; in questo caso, probabilmente, i più alti numeri di batteri lattici (LAB) e, conseguentemente, la CMT sono collegabili all'aggiunta dello starter durante la preparazione del formaggio. Allo stesso modo, i clostridi solfito riduttori (SRCs) si aggiravano su 10^5 UFC/g. I lieviti e le muffe sviluppatasi durante la stagionatura hanno valori di circa 10^4 e 10^5 UFC/g. Sono stati individuate dei valori molto bassi di *Micrococcaceae* nei campioni monitorati, così come per quanto riguarda Coliformi ed *Escherichia coli*. Inoltre, nei formaggi stagionati per 3 mesi nelle fosse dei due siti (Talamello e Cartoceto), la popolazione microbica ha mostrato alcuni cambiamenti nella carica microbica mesofila totale, che decresce da 10^9 a 10^7 UFC/g nel formaggio della fossa di Talamello, mentre da 10^9 a 10^8 UFC/g in quella di Cartoceto; la stessa tendenza è stata registrata per quel che concerne la microflora lattica (lactobacilli e lactococchi). Questo avviene poiché c'è un recupero della fermentazione dei prodotti, che porta la temperatura all'interno della fossa a salire fino a raggiungere un valore che rimane costantemente e leggermente più basso rispetto a quello esterno. In più, come risultato della consumazione dell'ossigeno, si crea un ambiente anaerobico che facilita la ripresa della fermentazione, dei processi enzimatici, dell'eliminazione dei grassi e dell'umidità residua, limitando, allo stesso tempo, l'essiccazione del prodotto (Pozzetto, 2000). Mentre, i clostridi solfito riduttori hanno un aumento di un ordine di grandezza e la stessa tendenza è stata mostrata dai lieviti e dalle muffe. Infine, gli *Enterobacteriaceae* e gli *Escherichia coli* non sono stati riscontrati nei formaggi. Questi risultati hanno suggerito che la microflora del Formaggio di Fossa durante la stagionatura decresce perché i parametri chimico-fisici cambiano. Infatti, durante la stagionatura, i formaggi subiscono una considerevole diminuzione del peso (del 20% circa) e assumono delle forme irregolari. La superficie della sagoma è umida e grassa e in alcuni casi coperta da muffa; la scorza è assente (Gobbetti et al., 1999). La microflora presente nel processo di

produzione del Formaggio di Fossa è composta da colture starter e microflora nativa, le quali giocano importanti ruoli durante la produzione iniziale del formaggio nel caseificio e durante la sua stagionatura nella fossa. In particolare, i microbiota iniziali hanno comportato una rapida acidificazione per quanto riguarda la produzione di acido lattico e producono enzimi che sono importanti per lo sviluppo del gusto durante la stagionatura (Leroy & De Vuyst, 2004). In secondo luogo, i batteri dell'acido lattico non starter (NSLABs), sono un complesso composto di batteri, lieviti e muffe che giocano un importante ruolo nell'acquisizione delle specifiche caratteristiche delle varietà del formaggio insieme ai fattori ambientali (Beresford et al., 2001; Fox, 1997). Anche i funghi filamentosi potrebbero raggiungere i formaggi dall'ambiente delle fosse naturali durante la stagionatura (Budak et al., 2016; López-Díaz et al., 1996). I batteri dell'acido lattico non starter solitamente aumentano da un numero relativamente basso durante la cagliata fresca per dominare la microflora del formaggio stagionato, perché tollerano bene l'ambiente ostile del formaggio durante la stagionatura. Inoltre, l'eterogeneità dei ceppi NSLAB insieme agli insiemi enzimatici, come le attività proteolitiche e lipolitiche, potrebbero determinare un'ulteriore complessità nel gusto del formaggio (De Angelis et al. 2001; Mc-Sweeney et al., 2000; Fox et al., 1998).

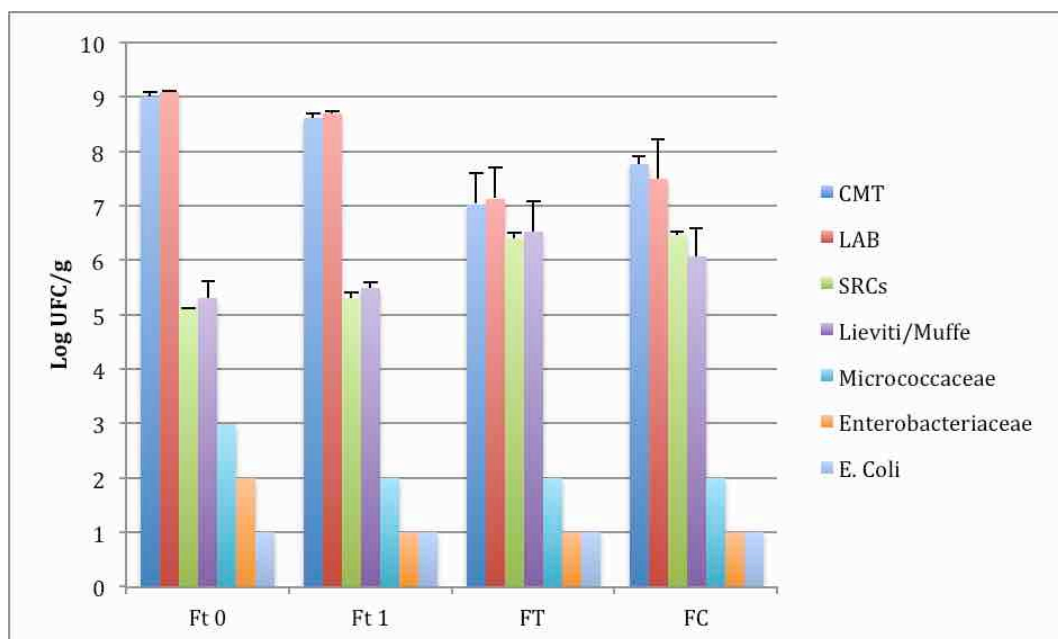


Figura 51. Popolazione microbica

6.9 Composti volatili

L'analisi SPME-GC/MS dei campioni di formaggio ha permesso l'identificazione di 77 composti appartenenti a sette gruppi di composti volatili. In particolare abbiamo quantificato 5 aldeidi (Tabella 4), 16 chetoni (Tabella 5), 15 esteri (Tabella 6), 16 alcoli (Tabella 7), 12 acidi (Tabella 8), 7 terpeni (Tabella 9), 3 lattoni e 3 composti solforati (Tabella 10). L'ammontare relativo dei composti individuali è stato espresso come "Relative Peak Area (RAP).

La quantità totale delle molecole volatili solitamente aumenta in quasi tutti i formaggi durante la stagionatura, anche se differiscono nel profilo, in accordo con Massouras et al. (2006), che ha riportato che la concentrazione totale di volatili aumenta durante la stagionatura. Le aldeidi alifatiche sono composti transitori e non si accumulano nel formaggio perché sono rapidamente trasformate in alcoli o in acidi corrispondenti (Hayaloglu et al., 2007). Normalmente, nel formaggio, vengono trovate delle catene aldeidiche ramificate, il 3-metilbutanale si forma dalla degradazione di Strecker dell'amminoacido Leu (Urbach, 1995) ed è stato trovato come un composto dal potente odore in diverse varietà di formaggio (Curioni and Bosset, 2002; Hayaloglu et al., 2007). La benzaldeide, che presenta la nota aromatica della mandorla amara, è comunemente individuata nei formaggi e si forma a causa di alcune reazioni ossidative dell'acido cinnamico o fenilacetaldeide (Molimard & Spinnler, 1996). I chetoni si formano come conseguenza di un'ossidazione enzimatica degli acidi grassi a cheto-acidi e dalla loro conseguente decarbossilazione a metil-chetoni (McSweeney & Sousa, 2000). Questi hanno odori caratteristici e una bassa soglia di percezione. Secondo Gioacchini et al. (2010), nel Formaggio di Fossa la maggior parte dei chetoni sono rappresentati dal 2-eptanone e 2-nonanone, che contribuiscono all'aroma e alla nota blu del formaggio. Sono stati individuate diversi esteri nella frazione volatile del Formaggio di Fossa, 7 esteri metili, 1 estere propilico, 3 esteri butilici, 2 esil-esteri, 1 estere propenilico e 1 estere metilico. Le reazioni di esterificazione potrebbero verificarsi tra le catene corte e medie degli acidi grassi e degli alcoli. Tuttavia, gli esteri possono anche essere sintetizzati direttamente dai trigliceridi e dagli alcoli tramite una reazione di alcolisi. Questi composti sono probabilmente il risultato del metabolismo microbico degli acidi grassi. Essi giocano un

importante ruolo nella formazione della caratteristica nota fruttata e caratterizzano il gusto di alcuni formaggi italiani (Panseri et al., 2008). Essi contribuiscono anche all'equilibrio del gusto, minimizzando la nitidezza impartita dagli acidi grassi. In particolare, abbiamo osservato una certa variabilità per quanto riguarda il livello degli esteri durante la stagionatura. Gli esteri più importanti, che sono aumentati nei campioni di Formaggio di Fossa, sono stati l'estere butanoico e quello di etile, l'estere etilico dell'acido esanoico, l'estere etilico dell'acido ottanoico, l'estere etilico dell'acido decanoico e l'estere propilico dell'acido butanoico. Gli esteri etilici, probabilmente contribuiscono all'acquisizione della maggior parte del gusto del Formaggio di Fossa (probabilmente a causa della loro alta percentuale), poiché presentano soglie di rilevamento basse (Delgado et al., 2010). Per quanto riguarda la classe degli alcoli, è stata trovata un'alta variabilità durante la stagionatura. Le diverse forme possono essere associate con le differenti vie metaboliche coinvolte nella formazione di alcoli nel formaggio, ovvero il metabolismo del lattosio, la riduzione del metil-chetone, il metabolismo degli amminoacidi e la degradazione degli acidi linoleico e linolenico (Delgado et al., 2010). Nei campioni sono stati identificati dodici diversi acidi, che contribuiscono positivamente all'acquisizione del tipico gusto nella stragrande maggioranza del formaggio (Panseri et al., 2008). Durante la stagionatura dei formaggi, gli acidi carbossilici possono essere originati a partire da tre principali vie metaboliche biochimiche: (i) lipolisi (idrolisi dei trigliceridi e formazione di acidi grassi liberi), (ii) proteolisi (rottura delle caseine e formazione di peptidi ed amminoacidi) e (iii) fermentazione lattica (revisionata da Curioni & Bosset, 2002). Basandoci su queste informazioni, abbiamo trovato acidi che hanno un'origine microbica (acido acetico e acido propanoico), acidi con origine lipolitica (acidi butanoico, pentanoico, esanoico, eptanoico, ottanoico, nonanoico e decanoico), acidi con origine da amminoacidi (acido propanoico, 2-metile e acido butanoico, 3-metile). Mentre l'origine dell'acido 9-decanoico non è chiara. Infine, la tendenza degli acidi è di aumento durante il processo di stagionatura del Formaggio di Fossa. Gli acidi esanoico e butanoico sono i più abbondanti acidi identificati. Ciò è dovuto alle loro basse soglie dell'aroma, considerate importanti contribuenti per quanto riguarda il profilo del gusto nell'ampia varietà dei

formaggi (Delgado et al., 2010; Delgado et al., 2011; Moio & Addeo, 1998). Gli acidi grassi a catena ramificata (acido propanoico, 2-metile e acido butanoico, 3-metile) sono dei composti attivi e caratteristici per quel che concerne l'odore dei formaggi di capra e di pecora. I terpeni sono dei composti volatili importanti con origine da piante, che costituiscono la miscela di foraggio dei pascoli (Delgado et al., 2011). Sono stati individuate tre lattoni nel formaggio stagionato per 90 giorni: γ -caprolattone, δ -decalattone, γ -ottalattone, e solamente il γ -ottalattone è stato individuato nel formaggio stagionato nella fossa di Cartoceto. I lattoni hanno note fruttate, dolci, cremose e fermentate, perciò possono contribuire all'acquisizione di note di odore piacevole nell'aroma del Formaggio di Fossa (Delgado et al., 2010). Inoltre, sono stati individuati tre composti a base di zolfo (solfito dimetile, metil propile disolfito e dimetile solfone) e tutti diminuiscono durante la stagionatura. Infine, il formaggio della fossa di Cartoceto presenta una più alta percentuale di componenti volatili rispetto al formaggio della fossa di Talamello, in particolare per quanto riguarda gli alcoli, gli acidi e la classe dei lattoni.

Tabella 4. Aldeidi – Area relativa del picco (RAP) \pm deviazione *standard* per i composti volatili del Formaggio di Fossa calcolata durante la sua produzione e la sua maturazione.

		Ft 0	Ft 1	FT	FC	Descrizione dell'odore *
RI	<i>Aldeidi</i>					
1165	esanale	13.7 \pm 0.5 ^b	38.7 \pm 0.2 ^a	nd	nd	erboso
1264	etanale	20.3 \pm 0.9 ^b	73.8 \pm 3.8 ^a	nd	nd	latte acido
1466	nonanale	26.0 \pm 0.03 ^a	10.5 \pm 0.07 ^b	nd	nd	floreale, agrume
1009	3-metilbutanale	nd	nd	2.7 \pm 0.2 ^b	4.2 \pm 0.1 ^a	tenue, olio
1589	benzaldeide	nd	nd	44.9 \pm 4.9 ^a	7.9 \pm 0.5 ^b	dolce

Dati medi per i tre lotti di formaggi di fossa, ottenuti con tre repliche;

a, b, c, d: la contemporanea presenza delle diverse lettere nella stessa riga indicano differenze statisticamente significative ($P < 0,05$);

nd = non determinato; RI: Indice di ritenzione; * www.thegoodscentscompany.com/

Ft 0 (formaggio appena cagliato), **Ft 1** (formaggio stagionato sessanta giorni in caseificio), **FT** (formaggio stagionato nella fossa di Talamello), **FC** (Formaggio stagionato nella fossa di Cartoceto).

Tabella 5. Chetoni – Area relativa del picco (RAP) \pm deviazione *standard* per i composti volatili del Formaggio di Fossa calcolata durante la sua produzione e la sua maturazione.

		Ft 0	Ft 1	FT	FC	Descrizione dell'odore *
RI	Chetoni					
872	2-propanone	208.3 \pm 6.7 ^b	240.9 \pm 2.3 ^a	101.7 \pm 7.2 ^d	189.0 \pm 5.2 ^c	mela, pera
993	2-butanone	20.8 \pm 0.1 ^a	44.5 \pm 0.5 ^c	33.4 \pm 0.5 ^b	41.3 \pm 2.0 ^c	chimico, fruttato
1066	2-pentanone	39.3 \pm 0.9 ^d	965.5 \pm 31.3 ^a	263.3 \pm 4.6 ^c	501.7 \pm 35.2 ^b	dolce, floreale
1069	2,3-butandione	100.1 \pm 7.2 ^a	82.2 \pm 1.5 ^b	nd	nd	fruttato, burroso
1165	2-esanone	nd	nd	12.2 \pm 0.4 ^a	7.6 \pm 0.2 ^b	fruttato, fungoso
1261	2-eptanone	68.5 \pm 0.7 ^d	645.8 \pm 27.1 ^c	1254.7 \pm 19.1 ^a	1034.9 \pm 29.5 ^b	gorgonzola
1277	3 metil 2 eptanone	nd	nd	2.0 \pm 0.2 ^a	2.3 \pm 0.2 ^a	-
1303	5-ettene-2 one	nd	nd	13.1 \pm 0.4 ^a	2.9 \pm 0.1 ^b	-
1359	2-ottanone	nd	nd	22.3 \pm 1.7 ^b	28.1 \pm 0.9 ^a	prodotti lattiero-caseari, ceroso
1360	acetoino	342.8 \pm 18.6 ^a	159.1 \pm 7.1 ^b	4.7 \pm 0.2 ^c	7.3 \pm 0.03 ^d	crema, prodotti lattiero-caseari
1410	6 metil 5 eptanone	nd	2.7 \pm 0.04 ^a	1.1 \pm 0.1 ^b	2.5 \pm 0.1 ^a	agrume
1461	2-nonanone	31.3 \pm 1.6 ^d	438.4 \pm 16.6 ^c	1139.6 \pm 81.4 ^a	1294.4 \pm 80.4 ^a	fruttato, floreale
1497	5-nonene-2-one	nd	nd	2.1 \pm 0.2 ^b	3.8 \pm 0.2 ^a	fruttato
1512	8-nonene-2-one	nd	nd	67.6 \pm 3.6 ^a	94.9 \pm 2.6 ^b	fruttato, cotto
1556	2-decanone	nd	nd	7.2 \pm 0.2 ^a	7.3 \pm 0.2 ^a	arancia, grasso
1663	2-undecanone	nd	17.9 \pm 0.1 ^c	56.8 \pm 1.1 ^a	43.5 \pm 0.8 ^b	ceroso, fruttato

Dati medi per i tre lotti di formaggi di fossa, ottenuti con tre repliche;

a, b, c, d: la contemporanea presenza delle diverse lettere nella stessa riga indicano differenze statisticamente significative ($P < 0,05$);

nd = non determinato; RI: Indice di ritenzione; * www.thegoodscentcompany.com/

Ft 0 (formaggio appena cagliato), **Ft 1** (formaggio stagionato sessanta giorni in caseificio), **FT** (formaggio stagionato nella fossa di Talamello), **FC** (Formaggio stagionato nella fossa di Cartoceto).

Tabella 6. Esteri – Area relativa del picco (RAP) \pm deviazione *standard* per i composti volatili del Formaggio di Fossa calcolata durante la sua produzione e la sua maturazione.

		Ft 0	Ft 1	FT	FC	Descrizione dell'odore *
RI	<i>Esteri</i>					
975	acetato di etile	63.5 \pm 3.5 ^a	45.3 \pm 0.2 ^b	nd	3.2 \pm 0.2 ^c	fruttato
1047	estere etilico dell'acido propionico	13.7 \pm 0.2 ^a	7.3 \pm 0.08 ^b	nd	nd	fruttato
1137	2-metile, metil estere dell'acido butanoico	2.5 \pm 0.1 ^a	3.7 \pm 0.1 ^b	nd	nd	fruttato
1124	estere etilico dell'acido butanoico	19.3 \pm 0.4 ^d	23.7 \pm 0.8 ^c	63.7 \pm 0.8 ^a	45.1 \pm 0.6 ^b	fruttato, formaggioso
1135	2 metil, etil ester dell'acido butanoico	6.7 \pm 0.5 ^a	6.5 \pm 0.4 ^a	Nd	nd	-
1156	estere utilico dell'acido acetico	12.7 \pm 0.6 ^a	12.3 \pm 0.3 ^a	Nd	nd	fruttato
1253	estere butilico dell'acido acetico,	nd	nd	0.9 \pm 0.1 ^a	1.1 \pm 0.03 ^a	fruttato, vegetale
1286	1-metil, butil estere dell'acido butanoico	nd	nd	1.0 \pm 0.1 ^a	0.8 \pm 0.01 ^a	fruttato
1310	estere etilico dell'acido esanoico,	8.2 \pm 0.03 ^d	20.7 \pm 0.1 ^c	28.0 \pm 1.8 ^a	25.1 \pm 0.6 ^b	dolce, ananas
1390	3-metil butil estere dell'acido butanoico	2.8 \pm 0.02 ^b	3.4 \pm 0.1 ^a	Nd	nd	mela, fruttato
1505	estere etilico dell'acido ottanoico,	nd	7.2 \pm 0.06 ^c	24.1 \pm 0.8 ^a	9.7 \pm 0.4 ^b	dolce, fruttato
1701	estere etilico dell'acido decanoico	nd	nd	33.8 \pm 1.8 ^a	13.6 \pm 0.3 ^b	ceroso, fruttato
1423	esil estere dell'acido formico	4.0 \pm 0.3 ^a	4.1 \pm 0.1 ^a	Nd	nd	etero, dolce
1348	esil estere dell'acido acetico	11.6 \pm 0.5 ^a	16.3 \pm 0.1 ^b	Nd	nd	fruttato, vegetale
1942	estere propilico dell'acido butanoico	nd	nd	10.2 \pm 0.5 ^b	19.5 \pm 0.9 ^a	dolce, fruttato

Dati medi per i tre lotti di formaggi di fossa, ottenuti con tre repliche;

a, b, c, d: la contemporanea presenza delle diverse lettere nella stessa riga indicano differenze statisticamente significative (P <0,05);

nd = non determinato; RI: Indice di ritenzione; * www.thegoodscentcompany.com/

Ft 0 (formaggio appena cagliato), **Ft 1** (formaggio stagionato sessanta giorni in caseificio), **FT** (formaggio stagionato nella fossa di Talamello), **FC** (Formaggio stagionato nella fossa di Cartoceto).

Tabella 7. Alcoli – Area relativa del picco (RAP) \pm deviazione *standard* per i composti volatili del Formaggio di Fossa calcolata durante la sua produzione e la sua maturazione.

		Ft 0	Ft 1	FT	FC	Descrizione dell'odore *
RI	Alcoli					
1023	etanolo	440.9 \pm 13.3 ^a	343.8 \pm 1.7 ^b	169.8 \pm 17.0 ^c	204.9 \pm 13.0 ^d	alcolico
1226	1-butanolo	8.7 \pm 0.1 ^a	7.5 \pm 0.1 ^b	1.3 \pm 0.1 ^d	3.5 \pm 0.2 ^c	banana, fusel
1230	isobutanolo	nd	nd	3.4 \pm 0.3 ^b	9.4 \pm 0.1 ^a	fusel
1208	2-pentanolo	nd	nd	44.2 \pm 2.7 ^b	88.1 \pm 4.0 ^a	debole, vegetale
1284	3-metil-1-butanolo	12.0 \pm 0.1 ^b	42.3 \pm 0.2 ^a	2.07 \pm 0.1 ^c	1.9 \pm 0.1 ^d	fusel, fermentato
1297	1-esanolo	nd	nd	1.5 \pm 0.1 ^a	1.6 \pm 0.1 ^a	vegetali, frutta
1324	1-pentanolo	25.6 \pm 0.9 ^a	21.3 \pm 0.5 ^b	2.6 \pm 0.2 ^c	0.9 \pm 0.02 ^d	fusel, fermentato
1391	2-eptanolo	nd	nd	71.1 \pm 3.4 ^a	58.7 \pm 2.6 ^b	fresco, limone
1392	3-metil-2-buten-olo	15.9 \pm 1.3 ^a	9.4 \pm 0.1 ^b	nd	nd	-
1518	1-ottene-3-olo	7.7 \pm 0.03 ^b	11.2 \pm 0.1 ^a	nd	nd	fungoso, terroso
1556	2- etil-esanolo	6.8 \pm 0.2 ^a	5.1 \pm 0.01 ^b	nd	nd	dolce, grasso
1638	2,3-butandiolo	18.4 \pm 0.9 ^b	68.5 \pm 0.4 ^a	nd	nd	fruttato, cremoso
1640	2-ottanolo	nd	nd	1.5 \pm 0.1 ^b	5.6 \pm 0.3 ^a	fresco, legnoso
1647	2-nonanolo	nd	nd	51.4 \pm 3.9 ^a	41.9 \pm 1.2 ^b	ceroso, vegetale
1721	2-furan metanolo	nd	nd	1.6 \pm 0.01 ^b	4.1 \pm 0.2 ^a	bruciato, dolce
1016	2-propanolo	nd	nd	7.3 \pm 0.8 ^b	18.2 \pm 0.4 ^a	mosto, legnoso

Dati medi per i tre lotti di formaggi di fossa, ottenuti con tre repliche;

a, b, c, d: la contemporanea presenza delle diverse lettere nella stessa riga indicano differenze statisticamente significative ($P < 0,05$);

nd = non determinato; RI: Indice di ritenzione; * www.thegoodscentscompany.com/

Ft 0 (formaggio appena cagliato), **Ft 1** (formaggio stagionato sessanta giorni in caseificio), **FT** (formaggio stagionato nella fossa di Talamello), **FC** (Formaggio stagionato nella fossa di Cartoceto).

Tabella 8. Acidi - Area relativa del picco (RAP) \pm deviazione *standard* per i composti volatili del Formaggio di Fossa calcolata durante la sua produzione e la sua maturazione.

		Ft 0	Ft 1	FT	FC	Descrizione dell'odore *
RI	<i>Acidi</i>					
1524	acido acetico	141.4 \pm 4.9 ^c	249.3 \pm 16.5 ^a	95.9 \pm 3.2 ^d	154.0 \pm 5.8 ^b	pungente, apro
1610	acido propanoico	nd	2.7 \pm 0.1 ^c	4.8 \pm 0.3 ^b	16.1 \pm 0.3 ^a	acido, prodotti lattiero-caseari
1634	2-metil acido propanoico	nd	nd	nd	5.5 \pm 0.2 ^a	acido, formaggio
1695	acido butanoico	132.2 \pm 8.9 ^d	1022.9 \pm 58.5 ^c	1386.9 \pm 78.5 ^b	1902.1 \pm 69.6 ^a	acuto, formaggio
1735	3 metil acido butanoico	nd	nd	7.8 \pm 0.3 ^a	6.3 \pm 0.2 ^b	formaggio, prodotti lattiero-caseari
1736	acido pentanoico	nd	11.6 \pm 0.3 ^c	20.4 \pm 0.6 ^a	19.6 \pm 0.3 ^b	Dolce, rancido
1909	acido esanoico	120.8 \pm 3.8 ^d	584.3 \pm 35.3 ^c	1337.4 \pm 72.9 ^b	2028.3 \pm 100.1 ^a	nauseante, acido
2012	acido eptanoico	5.9 \pm 0.03 ^c	6.3 \pm 0.05 ^c	12.3 \pm 0.6 ^b	15.1 \pm 0.4 ^a	rancido, formaggio
2117	acido ottanoico	24.3 \pm 0.6 ^d	44.3 \pm 0.6 ^c	346.1 \pm 8.5 ^b	444.3 \pm 14.9 ^a	grasso, ceroso
2220	acido nonanoico	nd	nd	6.1 \pm 0.2 ^a	5.7 \pm 0.3 ^a	ceroso, sporco
2326	acido decanoico	nd	7.5 \pm 0.06 ^c	115.7 \pm 6.8 ^a	74.6 \pm 1.5 ^b	grasso
2384	9- acido decanoico	nd	nd	3.1 \pm 0.03 ^a	2.7 \pm 0.03 ^a	ceroso, vegetale

Dati medi per i tre lotti di formaggi di fossa, ottenuti con tre repliche;

a, b, c, d: la contemporanea presenza delle diverse lettere nella stessa riga indicano differenze statisticamente significative (P <0,05);

nd = non determinato; RI: Indice di ritenzione; * www.thegoodscentscompany.com/

Ft 0 (formaggio appena cagliato), **Ft 1** (formaggio stagionato sessanta giorni in caseificio), **FT** (formaggio stagionato nella fossa di Talamello), **FC** (Formaggio stagionato nella fossa di Cartoceto).

Tabella 9. Terpeni - Area relativa del picco (RAP) \pm deviazione *standard* per i composti volatili del Formaggio di Fossa calcolata durante la sua produzione e la sua maturazione.

		Ft 0	Ft 1	FT	FC	Descrizione dell'odore *
RI	<i>Terpeni</i>					
1119	diidromircenolo	22.7 \pm 1.5 ^a	21.4 \pm 0.1 ^a	2.1 \pm 0.1 ^c	2.4 \pm 0.1 ^b	citronella, erboso
1178	p-menten-4(8)-ene	43.8 \pm 1.4 ^a	45.4 \pm 0.7 ^a	nd	2.7 \pm 0.2 ^b	-
1238	α -fellandrene	11.4 \pm 0.3 ^a	6.4 \pm 0.1 ^b	1.5 \pm 0.1 ^c	1.4 \pm 0.03 ^c	agrumi, lime
1272	limonene	152.6 \pm 12.7 ^b	360.6 \pm 7.6 ^a	6.3 \pm 0.2 ^c	2.3 \pm 0.1 ^d	pino, speziato
1107	α -pinene	20.4 \pm 0.1 ^a	20.5 \pm 0.1 ^a	1.2 \pm 0.1 ^c	1.9 \pm 0.1 ^b	legnoso, pino
1319	γ -terpinene	3.7 \pm 0.02 ^a	4.7 \pm 0.1 ^b	nd	nd	agrumi, lime
1195	sabinene	2.2 \pm 0.1 ^b	3.4 \pm 0.1 ^a	nd	3.7 \pm 0.04 ^c	legnoso, agrume

Dati medi per i tre lotti di formaggi di fossa, ottenuti con tre repliche;

a, b, c, d: la contemporanea presenza delle diverse lettere nella stessa riga indicano differenze statisticamente significative (P <0,05);

nd = non determinato; RI: Indice di ritenzione; * www.thegoodscentscompany.com/

Ft 0 (formaggio appena cagliato), **Ft 1** (formaggio stagionato sessanta giorni in caseificio), **FT** (formaggio stagionato nella fossa di Talamello), **FC** (Formaggio stagionato nella fossa di Cartoceto).

Tabella 10. Lattoni – Composti Solfurati Area relativa del picco (RAP) \pm deviazione *standard* per i composti volatili del Formaggio di Fossa calcolata durante la sua produzione e la sua maturazione.

		Ft 0	Ft 1	FT	FC	Descrizione dell'odore *
<i>Lattoni</i>						
1766	γ -caprolattone	nd	5.4 \pm 0.5 ^c	7.0 \pm 0.3 ^b	13.0 \pm 0.5 ^a	erboso, cocco
2246	δ -decalattone	nd	nd	2.6 \pm 0.3 ^a	4.2 \pm 0.2 ^a	cocco, dolce
1974	γ -ottalattone	nd	nd	nd	2.4 \pm 0.1 ^a	dolce, cocco
<i>Composti dello zolfo</i>						
761	dimetilsolfuro	35.9 \pm 0.1 ^b	44.1 \pm 0.2 ^a	nd	nd	vegetale, prodotti lattiero-caseari
1308	metil propil disolfuro	7.4 \pm 0.03 ^b	12.8 \pm 0.5 ^a	nd	nd	cipolla, radicchio
1958	dimetil solfone	10.3 \pm 0.3 ^a	6.6 \pm 0.1 ^b	0.03 \pm 0.00 ^c	2.2 \pm 0.1 ^c	sulfureo, bruciato

Dati medi per i tre lotti di formaggi di fossa, ottenuti con tre repliche;

a, b, c, d: la contemporanea presenza delle diverse lettere nella stessa riga indicano differenze statisticamente significative ($P < 0,05$);

nd = non determinato; RI: Indice di ritenzione; * www.thegoodscentcompany.com/

Ft 0 (formaggio appena cagliato), **Ft 1** (formaggio stagionato sessanta giorni in caseificio), **FT** (formaggio stagionato nella fossa di Talamello), **FC** (Formaggio stagionato nella fossa di Cartoceto).

7 Confronto tra il formaggio Pecorino Romano e il Formaggio di Fossa di Talamello e Cartoceto

Visto il particolare metodo e ambiente di stagionatura del Formaggio di Fossa, visti i risultati ottenuti dalle analisi chimiche sui formaggi, è sembrato interessante eseguire un confronto con un altro formaggio, sempre prodotto da latte di pecora, ma che viene interessato da un tipo di stagionatura diversa, il “Pecorino Romano”. Entrambi i formaggi messi a confronto vengono stagionati per 5 mesi con la differenza che, il Formaggio di Fossa subisce due processi di stagionatura, ovvero due mesi in caseificio in apposite celle a temperatura e umidità controllata e tre mesi circa all’interno delle fosse; il formaggio Pecorino Romano subisce un solo processo di stagionatura in caseificio in apposite celle a temperatura e umidità controllata o in grotte di tufo Etrusco – Romane.

Le caratteristiche chimico – fisiche acquisite dal Pecorino Romano prodotto con latte del mese di giugno (Addis et al., 2015) sono state confrontate con le caratteristiche chimico – fisiche acquisite dai formaggi oggetto di studio, anch’essi prodotti con latte di pecora dello stesso mese (Tabella 11).

Tabella 11 Valori medi, \pm deviazione *standard*, relativi alla composizione chimica del formaggio Pecorino Romano e il Formaggio di Fossa di Talamello e Cartoceto

	Pecorino Romano	Formaggio di Fossa stagionato a Talamello	Formaggio di Fossa stagionato a Cartoceto
pH	5.13 \pm 0.05	5.42 \pm 0.27	5.19 \pm 0.15
Umidità (%)	32.00 \pm 1.00	34.33 \pm 6.71	32.59 \pm 3.81
Lipidi (%)	49.00 \pm 0.9	33.76 \pm 1.58	34.65 \pm 1.48
Proteine (%)	35.00 \pm 1.00	27.33 \pm 4.32	27.45 \pm 3.36
Ceneri (%)	9.30 \pm 0.70	5.74 \pm 0.40	5.83 \pm 0.45
g NaCl/100 g	6.50 \pm 0.80	4.50 \pm 0.37	4.70 \pm 0.34

Dai dati riportati in tabella 11, appare evidente che le proprietà chimico – fisiche del Pecorino Romano sono del tutto differenti rispetto a quelli dei Formaggi di fossa oggetto di studio, con un evidente maggior contenuto di lipidi, proteine, ceneri e sale del Pecorino Romano rispetto ai due formaggi di fossa considerati. A parere dello scrivente, tali differenze vanno ricercate nella diversa tipologia di stagionatura e conseguentemente nell’ambiente in cui questa stagionatura avviene.

Le diverse caratteristiche chimico – fisiche dei formaggi comportano anche lo sviluppo di una diversa flora microbica che conferisce al formaggio le sue peculiari caratteristiche organolettiche e strutturali.

La maturazione e la stagionatura dei formaggi avviene grazie all'azione di lipasi, proteasi e peptidasi che grazie all'azione catalitica degradano lipidi e proteine del formaggio nei loro costituenti (aminoacidi e acidi grassi) che, rappresentano i substrati per le successive trasformazioni fondamentali per la definizione del profilo aromatico e sensoriale del prodotto finito.

La flora microbica gioca un ruolo decisivo e caratterizzante nelle vie metaboliche e trasformazioni biochimiche che portano alla maturazione finale del formaggio.

Le condizioni chimico - fisiche in cui avviene la maturazione (temperatura, umidità, aerazione, pH ecc.) delineano un micro-habitat in cui si sviluppa una microflora caratteristica nonché specifica responsabile delle caratteristiche organolettiche del prodotto finito. I parametri chimico – fisici operano una selezione sulle specie microbiche che pur essendo mesofile privilegiano determinati *range* di temperature; l'abbondanza di determinate specie rispetto ad altre nei processi di maturazione, determina inequivocabilmente le caratteristiche organolettiche e biochimiche del formaggio.

In questo lavoro di confronto, pertanto, riveste grande importanza l'ambiente di maturazione del formaggio, dove l'ambiente delle fosse, oltre a rappresentare caratteristiche microclimatiche peculiari, seleziona determinate specie batteriche. L'infossamento del formaggio è in stretta relazione con la geologia del luogo, il microclima e la microflora caratteristici delle fosse determinano le qualità biochimiche, organolettiche e sensoriali di un formaggio come si evince nel caso del Formaggio di Fossa analizzato in questo studio.

8 Conclusioni

Le sostanziali differenze granulometriche e fisico-meccaniche tra le due rocce arenarie, all'interno delle quali sono scavate le fosse oggetto di studio, fanno sì che si formi un diverso microclima all'interno di esse durante il periodo di stagionatura dei formaggi. Infatti, nella fossa di Cartoceto, che è scavata in un'arenaria poco cementata, con un buon potere assorbente e granulometria da medio a medio-grossolana e con intercalazioni di sottili strati argillosi, si registrano temperature più elevate rispetto alla fossa di Talamello che è scavata in un'arenaria ben cementata con un basso potere assorbente e granulometria da fine a media. L'aumento della temperatura all'interno delle fosse è dovuto ad una rifermentazione dei formaggi. In entrambe le fosse si viene a creare un particolare ambiente di stagionatura che influenza la maturazione di questo peculiare prodotto caseario.

Questo lavoro di tesi ha messo in evidenza come i parametri chimico-fisici dei formaggi analizzati, subiscano sostanziali variazioni tra il periodo di stagionatura ante-infossamento, che avviene in caseificio (60 giorni) ed il successivo e conclusivo periodo di maturazione che avviene in fossa (77 giorni). Infatti, il contenuto di proteine, lipidi, ceneri e cloruro di sodio aumenta significativamente nei formaggi stagionati nelle due fosse, rispetto a quelli che hanno subito la prima fase di stagionatura in caseificio. Altresì, questo studio non ha riscontrato differenze importanti, per gli stessi parametri chimico-fisici, tra i formaggi stagionati nella fossa di Talamello e quelli stagionati nella fossa di Cartoceto.

Diversa considerazione va fatta invece per gli aspetti microclimatici analizzati; infatti, il diverso microclima registrato nelle due fosse risulta influenzare i parametri nutrizionali dei due formaggi.

In particolare, il formaggio stagionato nella fossa di Talamello mostra elevati valori di acidi grassi saturi (SFA), rispetto al formaggio stagionato nella fossa di Cartoceto, mentre la somma degli acidi grassi polinsaturi (PUFA), è più elevata nei formaggi stagionati a Cartoceto.

Infine, la paglia che riveste le pareti delle fosse, oltre ad avere la funzione di isolante nei confronti delle pareti e dell'umidità che si sviluppa all'interno della fossa, influenza la concentrazione di alcuni gruppi di molecole volatili e ne risulta

che il formaggio della fossa di Cartoceto presenta una quantità più elevata di composti volatili rispetto a quelli della fossa di Talamello, in particolare alcoli, acidi e lattoni.

I risultati di questo studio dimostrano che la maturazione in fossa costituisce un valore aggiunto al prodotto e che pur utilizzando lo stesso formaggio e fosse differenti il prodotto non subisce sostanziali modificazioni e mantiene quelle caratteristiche uniche, date dal particolare ambiente di stagionatura.

Questo lavoro di ricerca, applicato alla filiera di produzione del noto Formaggio di Fossa, ha dimostrato che le variabili chimico-fisiche, litologiche e climatiche di quel particolare ambiente, certamente influenzano il prodotto caseario finale, rendendolo unico nel suo genere, e per qualità organolettiche e per gusto.

Indubbiamente, questo lavoro di tesi, ha rappresentato un approccio innovativo rispetto agli studi precedenti eseguiti sul Formaggio di Fossa. Infatti, mentre in passato l'attenzione è stata posta solo su alcune delle caratteristiche ambientali e/o qualitative dei formaggi, (Avellini P., et al., 1999 – Mascaro N., et al., 2010), in questo caso, per la prima volta si è tentato di ricostruire una quadro d'insieme più completo. L'obiettivo è stato quello di mettere a confronto due fosse, al fine di verificarne le eventuali differenze riguardanti più variabili ambientali in gioco, da quelle geologiche a quelle microclimatiche, passando per le peculiarità del latte e del formaggio ante e post sfossatura.

Sarebbe auspicabile che questo lavoro di ricerca potesse continuare, predisponendo un sistematico lavoro di monitoraggio durante tutta la durata della filiera di produzione, a partire dalle caratteristiche del foraggio delle greggi, sino alle analisi chimico-fisiche sui formaggi. Tutto ciò, a parere dello scrivente, costituirebbe certamente un valore aggiunto che andrebbe ad arricchire il valore già prezioso di questo prodotto di nicchia di fama internazionale. Sarebbe altresì interessante, potere procedere con sperimentazioni sul campo, con il medesimo approccio scientifico, da applicare su altri prodotti agro-alimentari tipici del territorio italiano al fine di verificare se e in che maniera le condizioni geologico-ambientali di un'area, influenzino il prodotto che arriva sulle nostre tavole (Olii extravergine, vini, frumenti, formaggi, frutti in genere, ecc.). Tutto ciò, oltre ad creare una vantaggiosa tracciabilità del singolo prodotto, potrebbe avere anche

un'importante ricaduta sugli aspetti legati alla salute umana, garantiti da un monitoraggio delle caratteristiche ambientali a contorno.

Ringraziamenti

Desidero ringraziare tutti coloro che hanno permesso la realizzazione di questo lavoro:

il tutor Prof. Rodolfo Coccioni, per aver creduto in me e per avermi dato l'opportunità di crescere cimentandomi con nuovi argomenti e confrontandomi con altre realtà;

il co-tutor Dott. Mario Sprovieri, per la grande disponibilità dimostratami e la pazienza con cui ha seguito il mio percorso;

il Dott. Giorgio Tranchida e la Dott.ssa Girolama Biondo dell'Istituto per l'ambiente Marino Costiero per avermi dato le dritte giuste nel comparare tutti i risultati ottenuti;

un ringraziamento speciale va alla Dott.ssa Maria Grazia Volpe dell'Istituto di Scienze dell'Alimentazione ISA-CNR di Avellino, per la collaborazione ricevuta e per aver coordinato tutto lo studio e le analisi condotte sui formaggi;

un sentito ringraziamento va al Dott. Francesco Siano, alla Dott.ssa Gabriella Fasulo e alla Dott.ssa Fausta De Cunzo per le analisi chimiche sui formaggi, alla Dott.ssa Alida Sorrentino per le analisi microbiologiche e alla Dott.ssa Floriana Boscaino per le analisi dei composti organici volatili;

un ringraziamento particolare va al Dott. Giovanni Giacalone per aver curato la parte software del sistema per il monitoraggio del micro clima delle fosse;

ancora desidero ringraziare la Dott.ssa Elvira Oliveri dell'Istituto per l'Ambiente Marino Costiero IAMC-CNR di Capo Granitola per avermi supportato nelle analisi mineralogiche, il Dott. Gabriele Gallì per aver assemblato il sistema per l'acquisizione dei dati microclimatici delle fosse e il Dott. Salvatore Gancitano dell'IAMC – CNR di Mazara del Vallo per avermi aiutato alla realizzazione delle sezioni sottili della roccia;

Infine ringrazio la Dott.ssa Carla Bucci dell'Università di Urbino per l'aiuto prestatomi nella raccolta dei campioni, il Dott. Paolo Pratelli presidente del caseificio Fattorie Marchigiane Valmetauro Tre Valli CoperLat per la fornitura dei formaggi, il Sig. Paolo Farneti proprietario della fossa di Talamello e il Dott. Francesco Baldarelli proprietario della fossa di Cartoceto.

Bibliografia

- Addis M., Fiori M., Riu G., Pes M., Salvatore E., Pirisi A. (2015). Physico-chemical characteristics and acidic profile of PDO Pecorino Romano cheese: Seasonal variation. *Small Ruminant Research*, in press.
- Al Khalifa A.S. (1996). Physicochemical Characteristics, Fatty Acid Composition, and Lipoxygenase Activity of Crude Pumpkin and Melon Seed Oils. *Journal of Agriculture and food chemistry* 44, 964-966.
- A.O.A.C. (1990). Official methods of analysis. 15th Ed. A.O.A.C, Washington D.C., U.S.A.
- Avellini P., Clementi F., Trabalza Marinucci M., Cenci Goga B., Rea S., Branciarri R. (1999). Pit cheese: compositional, microbiological and sensory characteristics. *Italian Journal of Food Science* 11, 317-333.
- Balestrieri, F., Marini, D. (1996). *Metodi di analisi chimica dei prodotti alimentari* (vol. I, II, III) - Monolite editrice Roma.
- Barahona, E., Huertas, F., Pozzuoli, A., Linares, J., 1982. Mineralogia e genesi dei sedimenti della provincia di Granada (Spagna), *Mineralog. Petrogr.Acta*, 26, 61-90.
- Barbieri, E., Schiavano, G. F., De Santi, M., Vallorani, L., Casadei, L., Guescini, M., Gioacchini, A. M., Rinaldi, L., Stocchi, V., Brandi, G. (2012). Bacterial diversity of traditional Fossa (pit) cheese and its ripening environment. *International Dairy Journal* 23, 62–67.
- Barchi M., Minelli G. & Piali G. (1998) - The CROP03 profile: a synthesis of results on deep structures of the Northern Appen- nines. *Mem. Soc. Geol. It.*, 52, 383-400.
- Beresford, T.P., Fitzsimons, N.A., Brennan, N.L., Cogan, T.M. (2001). Recent advances in cheese microbiology. *International Dairy Journal*, 11, 259-274.
- Budak, S.O., Figge, M.J., Houbraken, J., de Vries, R.P. (2016). The diversity and evolution of microbiota in traditional Turkish Divle Cave cheese during ripening. *International Dairy Journal*, 58, 50–53.
- Clementi, F., Di Antonio, E., (1998). Quando La Differenza La Fa La Fossa. *Caseus* 28.

Conti S., Fregni P. Geologia dell'Appennino Marchigiano-Romagnolo tra le valli del Savio e del Foglia (Note illustrative della carta geologica a scala 1:50.000). Boll. Soc. Geol. It., 108 (1989), 453-490, 14 ff., 1 tav. f.t.

Cobras, P., Martinelli, A., (2004). Chimica degli alimenti. Piccin

Conyers, M. K. e Davey, B.G. 1988. Observations on some routine methods for soil pH determination. Soil Sci. 145 : 29 - 36.

Corsetti, A., Gobetti, M., Smacchi, E., De Angelis, M., Rossi, J. (1998). Accelerated ripening of Pecorino Umbro cheese. *Journal Dairy Research*, 65, 631-642.

Coward M.P., De Donatis M., Mazzoli S., Paltrinieri W. & Wezel F.C. (1999) - The frontal part of the northern Apennine foreland fold and thrust belt in the Romagna-Marche area (Italy): shallow and deep structural styles. *Tectonics*, 18 (3), 559-574.

Curioni, P.M.G., Bosset, J.O. (2002). Key odorants in various cheese types as determined by gas chromatography-olfactometry. *International Dairy Journal*, 12, 959-984.

Davey, B.G. e Conyers, M.K. 1988. Determining the pH of acid soils. Soil Sci. 146: 141 - 150.

Deiana G. & Piali G. (1994) - The structural provinces of the Umbro Marchean Apennines. Mem. Soc. Geol. It., 48, 473-484.

Delgado, F.J., González-Crespo, J., Cava, R., García-Parra, J., Ramírez, R. (2010). Characterisation by SPME-GC-MS of the volatile profile of a Spanish soft cheese P.D.O. Torta del Casar during ripening. *Food Chemistry*, 118, 182-189.

Delgado, F.J., González-Crespo, J., Cava, R., Ramírez, R. (2011). Formation of the aroma of a raw goat milk cheese during maturation analysed by SPME-GC-MS. *Food Chemistry*, 129, 1156-1163.

De Angelis, M., Corsetti, A., Tosti, N., Rossi, J., Corbo, M.R., Gobetti, M. (2001). Characterization of non-starter lactic acid bacteria from Italian ewe cheeses based on phenotypic, genotypic, and cell wall protein analysis. *Applied and Environmental Microbiology*, 67, 2011-2020.

De Donatis M. (2001) - Three-dimensional visualisation of the Neogene structures of an external sector of the northern Apennines, Italy. *AAPG Bulletin*, 95 (3), 419-431.

Disciplinare di produzione “Formaggio di Fossa di Sogliano” DOP. Pagina Internet: <http://www.politicheagricole.it/ProdottiQualita/default>

Fox, P.F., Wallace, J.M. (1997). Formation of flavour compounds. *Advances in Applied Microbiology*, 45, 17-85.

Fox, P.F., McSweeney, P.L.H., Lynch, C.M. (1998). Significance of non-starter lactic acid bacteria in Cheddar cheese. *Australian Journal Dairy Technology*, 53, 5383–5389.

Gioacchini, A.M., De Santi, M., Guescini, M., Brandi, G., Stocchi, V. (2010). Characterization of the volatile organic compounds of Italian ‘Fossa’ cheese by solid-phase microextraction gas chromatography/mass spectrometry. *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, 24, 3405-3412.

Gobbetti M., Folkertsma B., Fox P. F., Corsetti A., Smacchi E., De Angelis M., Rossi J., Kilcawley K., Cortini M. (1999). Microbiology and biochemistry of fossa (pit) cheese. *International Dairy Journal*, 9, 763-773.

Gobbetti, M., A. Corsetti, E. Smacchi, M. De Angelis, and J. Rossi. (1997). Microbiology and biochemistry of Pecorino Umbro cheese during ripening. *Italian Journal of Food Science*, 9, 111–126.

Hayaloglu, A.A., Cakmakci, S., Brechany, E.Y., Deegan, K.C., McSweeney, P.L.H. (2007). Microbiology, Biochemistry, and Volatile Composition of Tulum Cheese Ripened in Goat's Skin or Plastic Bags. *Journal of Dairy Science*, 90(3), 1102-1121.

Leroy, F., De Vuyst, L. (2004). Lactic acid bacteria as functional starter cultures for the food fermentation industry. *Trends Food Science Technology*, 15, 67–78.

Lopez –Diaz, T.M., Roman-Blanco, C., Garcia-Arias, M.T., Garcia- Fernandez, M.C., Garcia-Lopez, M.L. (1996). Mycotoxins in two Spanish cheese varieties. *International Journal Food Microbiology*, 30, 391–395.

Malinverno A. & Ryan W.B.F. (1986) - Extension in the Tyrrhenian Sea and shortening in the Apennines as result of arc migration driven by sinking of the lithosphere. *Tectonics*, 5, 227-245.

Mascaro N., Stocchi R., Ricciutelli M., Cammertoni N., Renzi F., Cecchini S., Loschi A.R., Rea S. (2010). Biogenic amine content and chemical and physical features of Italian Formaggio di Fossa. *A.I.V.I.*, 49-53.

Massa, S., Tartura, G.C., And Trovatelli, L.D., (1988). Qualité Hygiénique Du Fromage De "Fosse" De Sogliano Al Rubicone (Italie). *Le Lait* 68:323

Massouras, T., Pappa, E.C., Mallatou, H. (2006). Headspace analysis of volatile flavour compounds of teleme cheese made from sheep and goat milk. *International Journal of Dairy Technology*, 59, 250-256.

Mcsweeney, P.L.H., Sousa M.J. (2000). Biochemical pathways for the production of flavour compounds in cheeses during ripening: A review. *Lait*, 80, 293-324.

Moio, L., Addeo, F. (1998). Grana Padano cheese aroma. *Journal of Dairy Research*, 65, 317-333.

Molimard, P., Spinnler, H.E. (1996). Review: Compounds Involved in the Flavor of Surface Mold-Ripened Cheeses: Origins and Properties. *Journal of Dairy Science*, 79, 169-184.

Najera, A.I., Barron, L.J.R. & Barcina, Y. (1993). Review: lipid fraction composition of cow's, sheep's, and goat's cheese, and the influence on its quality. *Revista Española de Ciencia y Tecnología de Alimentos*, 33, 345-363.

Olmedo, G.R. & Coll-Hellin, L. (1976). Contribucion al estudio de la grasa de leche de ovejas españolas. *Anales de Bromatología*, 38, 211-340.

Panseri, S., Giani, I., Mentasti, T., Bellagamba, F., Caprino, F., Moretti, V.M. (2008). Determination of flavour compounds in a mountain cheese by headspace sorptive extraction-thermal desorption-capillary gas chromatography-mass spectrometry. *LWT-Food Science and Technology*, 41, 185-192.

Peech, M. 1965. Hydrogen-ion activity. In: *Methods of Soil Analysis*. 2nd part. (C.A. Black, Ed.) Agron. Monogr. no 9. ASA and SSSA, Madison, WI p. 914 - 926.

Pozzetto, G. (2000). C'era una volta il Formaggio di Fossa. C'è ancora? Panozzo Editore, Rimini

Romano R., Giordano A., Chianese L., Addeo F., Spagna Musso S. (2011). Triacylglycerol, fatty acids and conjugated linoleic acids in Italian Mozzarella di Bufala campana Cheese. *Journal of Food Composition and Analysis*, 24, 244-249

Schultz, L.G., 1964. Quantitative interpretation of mineralogic composition from X-ray and chemical data for the Pierre Shale. U.S. Geol. Surv. Prof. Pap.

Sicheri, G. (1994). Il formaggio. Industrie agrarie e agroalimentari. Editore Ulrico Hoepli, Milano, pp. 402-455.

Stefanov I., Vlaeminck B., Fievez V. (2010). A novel procedure for routine milk fat extraction based on dichloromethane. *Journal of Food Composition and Analysis*, 23, 852–855.

Urbach, G. (1995). Contribution of Lactic Acid Bacteria to Flavour Compound Formation in Dairy Products. *International Dairy Journal*, 5, 877-903.

Varrotti. A., (1988). "Talamello". Modulistica Valmarecchia, S.Ermete Di Santarcangelo (Fo). Italy