



Prove di shelf life accelerata in prodotti lattiero-caseari tradizionali dell'Umbria - Accelerated shelf life tests in traditional dairy product, from Umbria (Italy)

Ortenzi R., Altissimi M. S., Scuota S. Valiani, A., Haouet M. N.

Abstract. The aim of this work was to define the shelf life of some traditional dairy products of Umbria, such as Pecorino di Norcia and Ravaggiolo Umbro, through predictive tests of accelerated shelf life (ASLD, Accelerated Shelf Life Determination). The tests were conducted on fresh samples and then on samples stored under different conditions of thermal abuse. For each sample several analysis were carried out such as total coliforms, mold, *Pseudomonas* spp., moisture, pH and TVB-N. The samples were also subjected to inspectional examination for the evaluation of the sensory characteristics, according to an internal panel test based on an hedonistic scale 0 to 4. According to the results for each parameter, it was evaluated the behavior for the Arrhenius relationship in order to perform a predictive modeling of shelf life at storage temperature of 4°C. The study of the time/temperature tolerances and the Arrhenius plot shows that the model used is adequate for the system of predictive mathematical calculation. Therefore the activation energy (Ea) and the Q10 were calculated, resulting respectively in 160.82 kJ/mol and 9.98 for the Pecorino di Norcia, 74.415 kJ/mol and 2.90 for the Ravaggiolo. Basing on these values of Ea and Q10 it was possible to assign a shelf life of 5.5 months at a storage temperature of 4°C to Pecorino di Norcia and 9 days at a storage temperature of 4°C to Ravaggiolo.

Riassunto. Scopo del presente lavoro è stato quello di determinare, attraverso prove predittive di shelf life accelerata (ASLD, Accelerated Shelf Life Determination), la durata della vita commerciale di alcuni prodotti caseari tradizionali dell'Umbria, quali il Pecorino di Norcia e il Ravaggiolo Umbro. Le prove sono state condotte su campioni appena prodotti e successivamente su campioni conservati in diverse condizioni di abuso termico. Per ogni campione sono state effettuate la numerazione di Coliformi totali, la numerazione di muffe, la numerazione di *Pseudomonas* spp. e le determinazioni di umidità, pH e ABVT. I campioni sono stati inoltre sottoposti ad esame ispettivo per la valutazione delle caratteristiche sensoriali, secondo un panel test interno, seguendo una scala edonistica da 0 a 4. Dai risultati ottenuti, è stato valutato, per ogni parametro, il comportamento per la relazione di Arrhenius al fine di effettuare una modellazione predittiva della shelf life alla temperatura di conservazione di 4°C. Dallo studio delle tolleranze tempo/temperatura e del plot di Arrhenius, si evince che il comportamento del modello adottato è adeguato per il sistema di calcolo matematico predittivo. Sono stati pertanto calcolati l'energia di attivazione (Ea) e il Q10, risultati pari rispettivamente a 160,82 kJ/mol e 9,98 per il Pecorino di Norcia e 74,415 kJ/mol e 2,90 per il Ravaggiolo. In base a tali valori di Ea e del Q10, è stato possibile assegnare ai formaggi in esame una shelf life di 5,5 mesi ad una temperatura di conservazione di 4°C per il Pecorino di Norcia e 9 giorni ad una temperatura di conservazione di 4°C per il Ravaggiolo.

Introduzione

Secondo la legislazione vigente (D.Lgs. n. 109 del 27 gennaio 1992 e Regolamento UE n. 1169 del 25 ottobre 2011), il termine minimo di conservazione (TMC), obbligatorio per i prodotti confezionati, è la "data fino alla quale il prodotto alimentare conserva le sue proprietà specifiche in adeguate condizioni di conservazione", mentre, per i prodotti altamente deperibili da un punto di vista microbiologico, la data di scadenza è la "data entro la quale il prodotto alimentare va consumato". In altre parole, la Shelf life è il periodo di tempo, dopo la produzione e/o il confezionamento, nel quale il prodotto alimentare mantiene le proprie caratteristiche chimiche, fisiche e sensoriali (Man 2002; Steele 2004).

D'altra parte, seppur sia noto che l'Italia abbia un patrimonio enogastronomico di grande rilievo, solo negli ultimi anni si è presa coscienza di un'altra grande ricchezza e cioè quella rappresentata dai prodotti tipici e tradizionali locali. A questa ricchezza produttiva si associa anche una grande varietà di preparazioni gastronomiche, per cui si può parlare di giacimenti

enogastronomici.

Non è un caso che nella lista dei prodotti tradizionali italiani siano stati inseriti tanti prodotti tipici locali; veramente un primato a livello mondiale, che valorizza non solo il prodotto in quanto tale, ma anche le metodiche tradizionali di lavorazione.

Nella grande ricchezza del patrimonio gastronomico italiano, si contano 472 prodotti caseari registrati nell'elenco nazionale dei prodotti agroalimentari tradizionali, che per lungo tempo, non sono risultati soggetti all'indicazione del tempo minimo di conservazione.

Tuttavia, la globalizzazione del mercato alimentare e, la continua e sempre crescente richiesta da parte del consumatore di alimenti sicuri, freschi, convenienti e di elevata qualità, ha portato ad una crescente necessità di prolungare la shelf life dei prodotti. Tutto questo ha comportato una maggiore pressione sull'industria alimentare, che deve essere in grado di assicurare una certa stabilità ed un certo tempo di conservazione dei prodotti, a partire dal loro punto di origine.

Gli alimenti in generale sono molto suscettibili all'attacco di batteri degradanti (Smith et al., 2004; Haouet et al., 2006; Galic' et al., 2009).

E' stato dimostrato, in particolare, che alcuni prodotti alimentari, quali i lattiero-caseari a pasta fresca, sono molto suscettibili a processi degradativi a carico di muffe, *Pseudomonas* spp. ed enterobatteri (Cabrini e Neviani, 1983; Rondini et al., 1990; Cantoni et al., 2003a-b; Parisi 2003a-b; Papaioannou et al., 2005; Haouet et al., 2008).

Infine, sebbene la definizione sperimentale della shelf life dei prodotti alimentari non sia un requisito di legge, la grande distribuzione esige tali definizioni dai produttori. Il metodo più comune e diretto per la determinazione della shelf life è quello di condurre prove simulate, conservando cioè il prodotto in esame in condizioni di conservazione ideale fino al suo decadimento. Tale approccio tuttavia richiede molto tempo, e risulta particolarmente oneroso e dispendioso. Per queste ragioni si ricorre in genere a prove predittive di shelf life accelerata (ASLD, Accelerated Shelf Life Determination) (Labuza 1985; IFIST 1993; Labuza 2000).

Tuttavia, non esistono modelli legislativi né bibliografici da seguire e/o rispettare per effettuare prove di valutazione della shelf life, né esistono linee guida e tutto rimane a discrezione e al buon senso dell'operatore. In assenza di informazioni a riguardo, è stata messa a punto dall'Istituto Zooprofilattico Sperimentale dell'Umbria e delle Marche (Perugia) una pratica di valutazione, sostenibile da parte dei produttori, in particolare medi e soprattutto piccoli, così che la determinazione sperimentale della shelf life è diventata da anni una delle attività della nostra azienda.

Scopo del presente lavoro è stato quello di determinare attraverso prove predittive la shelf life di alcuni prodotti caseari tradizionali dell'Umbria, quali il Pecorino di Norcia e il Ravaggiolo Umbro ai quali il produttore aveva attribuito empiricamente un tempo minimo di conservazione di 4 mesi e 20 giorni rispettivamente.

Materiali e metodi

Sono state condotte due prove di shelf life accelerata, una su spicchi di Pecorino di Norcia confezionati sottovuoto e l'altra su Ravaggiolo Umbro confezionato in vaschetta sigillata. Sono state utilizzate nove confezioni appena prodotte di Pecorino di Norcia e otto confezioni appena prodotte di Ravaggiolo.

Una confezione è stata immediatamente sottoposta ad analisi (tempo 0), mentre le rimanenti sono state conservate, in condizione di abuso termico secondo gli schemi riportati nelle figure 1 e 2, in cui il campionamento (X) è indicato dalle celle colorate. Le celle contraddistinte da

una bordatura spessa indicano il momento in cui il prodotto ha mostrato cambiamenti significativi delle proprie caratteristiche e le celle barrate con una linea diagonale indicano che le analisi non sono state effettuate in quanto il prodotto era già risultato inaccettabile ai campionamenti precedenti.

	0 Gio 9	1 Ven 10	2 Sab 11	3 Dom 12	4 Lun 13	5 Mar 14	6 Mer 15	7 Gio 16	8 Ven 17	9 Sab 18	10 Dom 19	12 Mar 21	14 Gio 23	19 Mar 28
12°C									X			X	X	X
18°C	X				X				X			X		
25°C		X												

Figura 1: Schema di campionamento della prova di shelf life per il Pecorino di Norcia
Figure 1: Shelf life test sampling scheme for the: "Pecorino di Norcia" cheese

	0 Gio	1 Ven	2 Sab	3 Dom	4 Lun	5 Mar	6 Mer	7 Gio	8 Ven	9 Sab	10 Dom	11 Lun
13°C						X			X			X
18°C	X				X			X			X	
25°C		X										

Figura 2: Schema di campionamento della prova di shelf life per il Ravaggiolo
Figure 2: Shelf life test sampling scheme for the "Ravaggiolo" cheese.

Per ogni campione sono state effettuate la numerazione di Coliformi totali (metodo validato AFNOR BRD - 07/8 - 12/04), la numerazione di muffe (metodo interno - semina su terreno Dichloran Rose Bengala Chloramphenicol Agar - Oxoid, incubazione a 25°C per 5 giorni), la numerazione di *Pseudomonas* spp. (NORMA ISO/TS 11059:2009 - IDF/RM 225:2009), e le determinazioni di umidità (essiccamento in stufa a temperatura controllata fino a peso costante), pH (conduttimetria) e ABVT (azoto basico volatile totale) (metodo Kjeldahl). I campioni sono stati inoltre sottoposti ad esame ispettivo per la valutazione delle caratteristiche sensoriali, secondo un panel test interno composto da 5 operatori, considerando l'aspetto, il colore, l'odore, l'aroma, il sapore e la consistenza, seguendo una scala edonistica da 0 a 4 (0: cambiamento delle caratteristiche molto significativo; 1: cambiamento delle caratteristiche significativo; 2: lieve ma significativo cambiamento delle caratteristiche; 3: cambiamento delle caratteristiche non significativo; 4: caratteristiche immutate).

Dai risultati ottenuti, è stato valutato, per ogni parametro, il comportamento per la relazione di Arrhenius al fine di effettuare una modellazione predittiva della shelf life alla temperatura di conservazione di 4°C.

Risultati

I risultati sono riportati nelle tabelle 1, 2 e 3. I dati microbiologici del Pecorino di Norcia non sono riportati in quanto tutti inferiori al limite di rilevabilità dei metodi. Le celle con l'asterisco corrispondono al giorno in cui, attraverso l'esame sensoriale, è stata rilevata una percezione di decadimento delle caratteristiche proprie del prodotto rilevate al tempo 0 e di seguito riportate.

Pecorino di Norcia: aspetto sodo e compatto; colore giallo chiaro paglierino; pasta soda, compatta, con assenza di occhiature e di essudazione al taglio; consistenza morbida; odore tipico del prodotto; sapore aromatico, con sfumature di piacevole aroma di "fieno", e un retrogusto leggermente amaro e piccante.

Raviggiolo Umbro: piccole forme di aspetto fresco senza segni particolari; colore: bianco latte, senza macchie; pasta: compatta, assenza di occhiature e di essudazione al taglio; consistenza: soffice; odore: molto tenue delicato; sapore: delicato.

Tabella 1. Risultati di Umidità, ABVT, pH e valutazioni sensoriali nel Pecorino di Norcia												
Giorno	Umidità (g/100 g)			ABVT (mg/100 g)			pH			Esame sensoriale		
	12°C	18°C	25°C	12°C	18°C	25°C	12°C	18°C	25°C	12°C	18°C	25°C
0	29.67			17			5.88			4		
1	-	-	31.24	-	-	18	-	-	5.64	-	-	* 1
4	-	29.71	-	-	17	-	-	5.98	-	-	3	-
8	29.59	28.41	-	19	19	-	5.85	5.64	-	3	3	-
12	30.64	29.09	-	18	19	-	5.64	5.49	-	3	* 2	-
14	26.09	-	-	20	-	-	5.92	-	-	3	-	-
19	31.53	-	-	20	-	-	6.08	-	-	* 2	-	-

Table 1. Results for: Moisture, Total Volatile Basic Nitrogen TVB-N, pH and sensory evaluation in "Pecorino di Norcia" cheese

Tabella 2. Numerazione di coliformi, muffe e <i>Pseudomonas</i> spp. (UFC/g) nel Raviggiolo									
NR: non rilevabile (inferiore a 100 ufc/g)									
Giorno	Coliformi (ufc/g)			Muffe (ufc/g)			<i>Pseudomonas</i> spp (ufc/g)		
	12°C	18°C	25°C	12°C	18°C	25°C	12°C	18°C	25°C
0	1.6 x 10 ⁶			NR			2.1 x 10 ⁶		
1	-	-	* 4 x 10 ⁷	-	-	NR	-	-	* 4 x 10 ⁷
4	-	* 1.2 x 10 ⁸	-	-	NR	-	-	* 1.2 x 10 ⁸	-
5	* 2.8 x 10 ⁸	-	-	NR	-	-	* 2.8 x 10 ⁸	-	-

Table 2. Numbers of coliforms, molds and *Pseudomonas* spp. (CFU / g) in the "Raviggiolo" cheese
- NR: not detectable (< 100 ufc/g)

Tabella 3. Risultati di Umidità, ABVT, pH e valutazioni sensoriali nel Raviggiolo												
Giorno	Umidità (g/100 g)			ABVT (mg/100 g)			pH			Esame sensoriale		
	12°C	18°C	25°C	12°C	18°C	25°C	12°C	18°C	25°C	12°C	18°C	25°C
0	59.11			14			6.25			4		
1	-	-	* 55.30	-	-	11	-	-	5.62	-	-	* 0
4	-	* 55.56	-	-	14	-	-	* 5.90	-	-	* 0	-
5	* 60.15	-	-	13	-	-	* 6.07	-	-	* 1	-	-

Table 3. Results for Moisture, TVB-N, pH and sensory evaluations in "Raviggiolo" cheese

Discussione e conclusioni

In uno studio precedente (Haouet et al., 2008), erano già stati valutati i limiti di accettabilità per Coliformi totali, *Pseudomonas* spp. e muffe nei formaggi a pasta fresca, fissati rispettivamente a 103 UFC/g, 106 UFC/g e 102 UFC/g.

Dallo studio è emerso che nel Pecorino di Norcia i microorganismi presi in esame non hanno mai avuto possibilità di svilupparsi, indipendentemente dalla temperatura di conservazione, e i risultati degli esami bromatologici non hanno mostrato modifiche degne di nota. Solo le caratteristiche sensoriali hanno permesso di apprezzare un mutamento giudicato significativo e rappresentato dalla presenza di piccole occhiature nella pasta, una leggera essudazione grassa al tatto, un odore lievemente inacidito e un sapore contraddistinto da un retrogusto crescente di piccante e di amaro. Tali modifiche sono avvenute dopo 19 giorni a temperatura di 12°C, 12 giorni a temperatura di 18°C e 1 giorno a temperatura di 25°C.

Per quanto riguarda il Ravaggiolo, le determinazioni concernenti gli ultimi quattro campioni (conservati a temperature di 12°C e 18°C) non sono state eseguite in quanto i prodotti mostravano in tutti i prelievi successivi al tempo 0, caratteristiche inaccettabili. In particolare, per la numerazione di Coliformi totali e di *Pseudomonas* spp., i risultati ottenuti mostravano valori al di sopra dei limiti di accettabilità già al tempo 0. Come riportato anche da alcuni autori (Azza et al., 2010; Leriche et al., 2004; Haouet et al., 2008; Stojiljkovic' e Kakurinov 2011), Coliformi e *Pseudomonas* sono tra le principali specie batteriche responsabili del decadimento delle caratteristiche chimico-fisiche dei prodotti lattiero-caseari in quanto produttori di enzimi lipolitici e proteolitici.

Gli stessi autori riferiscono come la contaminazione dei prodotti lattiero-caseari, soprattutto freschi, da parte di Coliformi e *Pseudomonas* possa essere ricondotta all'utilizzo di latte di bassa qualità igienica o derivare anche da scarse condizioni igieniche nella trasformazione. Inoltre le caratteristiche fisiche del Ravaggiolo, come di altri formaggi non stagionati, in termini di pH e umidità, favoriscono oltremodo la crescita batterica delle specie contaminanti soprattutto se presenti già in gran numero nella materia prima o nell'ambiente di trasformazione (Guynot et al., 2003). Anche all'esame ispettivo i campioni di Ravaggiolo hanno mostrato, già ai primi prelievi, forma leggermente concava alla sommità, colore leggermente ingiallito sulla superficie esterna, odore fortemente inacidito e presenza di occhiature internamente nella pasta.

In base ai risultati sopra riportati, sono state valutate come inaccettabili le caratteristiche del prodotto in esame dopo 4 giorni a temperatura di 12°C, 2 giorni a temperatura di 18°C e 1 giorno a temperatura di 25°C. Nelle figure 3 e 5, sono illustrate la curva di regressione per la tolleranza tempo/temperatura e, nelle figure 4 e 6, quella del plot di Arrhenius, rispettivamente per Pecorino di Norcia e Ravaggiolo.

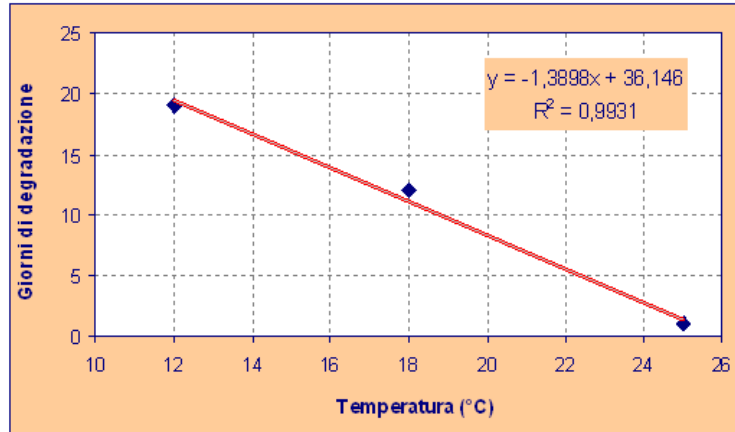


Figura 3. Tolleranza tempo/temperatura (Pecorino di Norcia)
 Figure 3. Tolerance time / temperature ("Pecorino di Norcia" cheese)

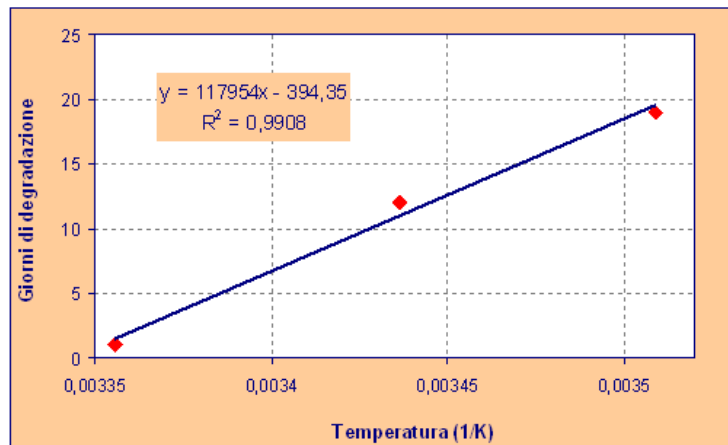


Figura 4. Plot di Arrhenius (Pecorino di Norcia)
 Figure 4. Arrhenius plot ("Pecorino di Norcia" cheese)

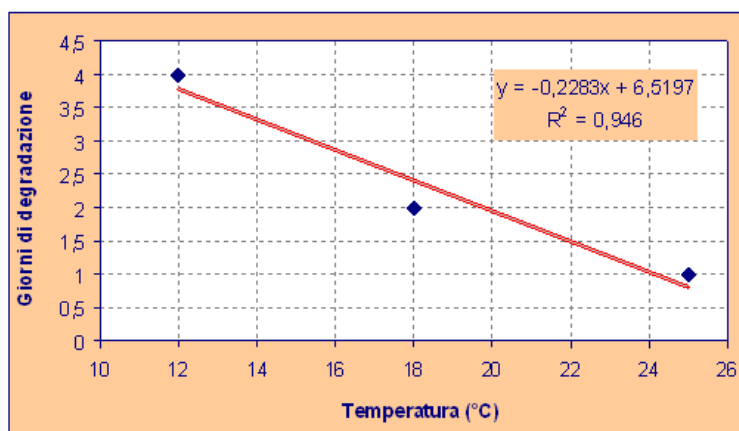


Figura 5. Tolleranza tempo/temperatura (Ravaggiolo)
 Figure 5. Tolerance time / temperature ("Ravaggiolo" cheese)

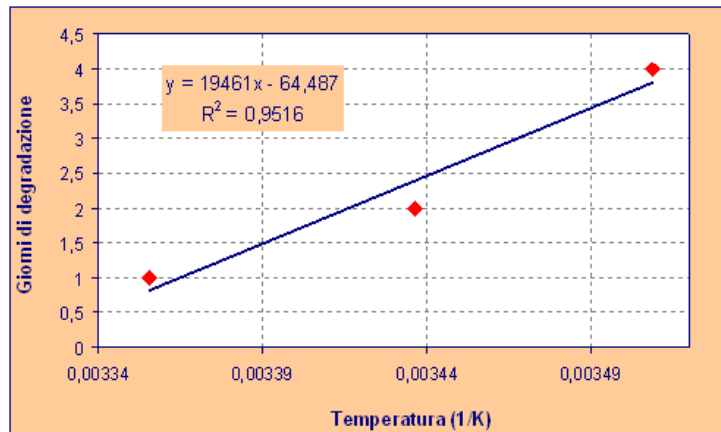


Figura 6. Plot di Arrhenius (Ravaggiolo)
Figure 6. Arrhenius plot ("Ravaggiolo" cheese)

Dallo studio delle tolleranze tempo/temperatura e del plot di Arrhenius si evince che il comportamento del modello adottato è adeguato per il sistema di calcolo matematico predittivo. In particolare si può osservare nelle figure 3 e 4, come i coefficienti di correlazione lineare (R^2) siano maggiori di 0,99, mentre nelle figure 5 e 6, i suddetti coefficienti risultano essere prossimi a 0,95. Sono stati pertanto calcolati l'energia di attivazione (E_a) e il Q_{10} , risultati pari rispettivamente a 160,82 kJ/mol. e 9,98 per il Pecorino di Norcia e 74,415 kJ/mol. e 2,90 per il Ravaggiolo.

In base a tali valori di E_a e del Q_{10} , è stato possibile assegnare ai formaggi in esame una shelf life di 5,5 mesi ad una temperatura di conservazione di 4°C per il Pecorino di Norcia e 9 giorni ad una temperatura di conservazione di 4°C per il Ravaggiolo.

Va sottolineato che la shelf life attribuita dal produttore, in base alla sua esperienza, era di 4 mesi per il Pecorino di Norcia ed è risultata, dal presente studio, nettamente superiore, a conferma dell'ottimo stato igienico del prodotto in esame.

Per il Ravaggiolo, invece, la shelf life valutata sperimentalmente di 9 giorni risulta decisamente inferiore ai 20 giorni attribuiti empiricamente e inaccettabile per la grande distribuzione.

Il presente studio ha permesso di rilevare livelli di germi alteranti troppo elevati e di constatare, dopo sopralluogo e intervista effettuata al produttore, l'esistenza di problemi igienici nella camera bianca che sono stati quindi risanati.

Bibliografia

Azza M.M. Deeb, H.F. Ahmed (2010). Effect of Potassium Sorbate and/or Probiotic Bacteria on Spoilage Bacteria During Cold Storage of Soft Cheese. *Global Veterinaria* 4 (5):483-488.

Cabrini A., Neviani E. (1983). Il genere *Pseudomonas* causa di sapore amaro e di odore putrido sulla superficie di formaggio Mozzarella. *Il Latte* 8:90.

Cantoni C., Stella S., Cozzi M., Iacumin L., Comi G. (2003). Colorazione blu di mozzarelle. *Ind. Alimentari* 42:840-843.

Cantoni C., Iacumin L., Comi G. (2003). Alterazione giallo-arancio di Mozzarella. *Ind. Alimentari* 42:134-136.

Leriche F., Bordessoulesb A., Fayollea K., Karouia R., Lavalb K., Leblanca L., Dufoura E. (2004). Alteration of raw-milk cheese by *Pseudomonas* spp.: monitoring the sources of contamination using fluorescence spectroscopy and metabolic profiling. *Jour. Microb. Methods* 59:34-41.

Galic' K., Curic' D., Gabric' D. (2009) Shelf life of packaged bakery goods-a review. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* May;49(5):405-26.

Guynot ME., Marín S., Sanchis V., Ramos AJ. (2003) Modified atmosphere packaging for prevention of mold spoilage of bakery products with different pH and water activity levels. *J. Food Prot.* Oct;66(10):1864-72.

Haouet M. N., Altissimi M. S., Blasi G., Petruzzelli A., Scuota S., Cenci T. (2006). Shelf life assessment and prediction of traditional food of Central Italy. *Shelf Life International Meeting*, Catania, June 2006.

Haouet M. N., Altissimi M. S., Scuota S., Cenci T. (2008). Spoilage mechanisms evaluation to predict the shelf life of fresh cheeses. *Shelf Life International Meeting*, Ischia, June 2008.

IFST (1993). Shelf life of foods. Guidelines for its determination and prediction. Institute of Food Science and Technology (UK), London.

Labuza T.P. (2000) The search for shelf-life. *Food Testing and Analysis*, May, 26-36.

Labuza T.P., Schimdl MK. (1985). Accelerated shelf life of foods. *Food Technology*. 9:57-134.

Man D. (2002). *Food Industry Briefing Series: Shelf life*. Blachwell Science Ltd Ed. UK.

Papaioannou G., Chouliara I., Karatapanis A. E., Kontominas M. G., Savvaidis I. N. (2005). Shelf-life of a Greek whey cheese under modified atmosphere packaging. *International Dairy Journal*, 17(4): 358-364.

Parisi S. (2003). Curve predittive per la crescita dei batteri coliformi in prodotti lattiero-caseari. *Ind. Alimentari* 42:29-37.

Parisi S. (2003). Evoluzione chimico-fisica e microbiologica nella conservazione di prodotti lattiero-caseari. Ind. Alimentari 42:249-259.

Rondinini G., Garzaroli C. (1990). Mozzarelle prodotte per acidificazione chimica: Aspetti microbiologici e alterativi. Ind. Alimentari 29:329-334.

Smith J. P., Daifas D. P., El-Khoury W., Koukoutsis J., El-Khoury A. (2004) Shelf life and safety concerns of bakery products-a review. Crit. Rev. Food Sci. Nutr. 44(1):19-55.

Steele R. (2004) Understanding and measuring the Shelf life of food Woodhead Publishing Limited. Cambridge England.

Stojiljkovic' J., Kakurinov V. (2011). The Dynamic Of The Number Of Coliform Bacteria In White Cheese. Biotech. In Anim. Husbandry 27(3):1091-1096.



This work is licensed under the Creative Commons Attribution 4.0 International License. To view a copy of this license, visit <http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>.

	Istituto Zooprofilattico Sperimentale dell'Umbria e delle Marche, Via G. Salvemini 1. 06126, Perugia - Italy	
Centralino Istituto	Tel. +39 075 3431 - Fax. +39 075 35047	
Biblioteca	Tel. / Fax +39 075 343217 e-mail: bie@izsum.it	
Rivista SPVet.it ISSN 1592-1581	Tel. +39 075 343207 e-mail: editoria@izsum.it ; redazione-spvet@izsum.it http://spvet.it ; http://indice.spvet.it	
U. R. P.	Tel. +39 075 343223; Fax: +39 075 343289 e-mail: URP@izsum.it	