RIASSUNTO

La resa di caseificazione è un parametro qualitativo del latte che deriva dal rapporto tra quantità di prodotto finito (formaggio) ottenuto dalla lavorazione di una determinata quantità di latte. Rappresenta il parametro di maggiore importanza per l'industria casearia, in quanto maggiori rese di produzione si traducono in un miglioramento generale dell'efficienza di produzione, essendo associate ad una migliore attitudine casearia del latte di partenza. Inoltre, a parità di latte lavorato, una maggiore resa porta ad una riduzione dei prodotti di scarto del processo di caseificazione (siero) e a una maggiore produzione di formaggio, e quindi a maggiori introiti potenziali per il caseificio. Tuttavia, al momento non esistono dei sistemi di monitoraggio della resa rapidi e a basso costo che possano permettere di determinare la resa di caseificazione su larga scala. La spettroscopia nel medio infrarosso (MIRS) è una tecnica di laboratorio che studia le interazioni tra radiazione elettromagnetica, nella regione tra 900 e 5.000 cm⁻¹, e materia fisica. Ad oggi, la tecnica MIRS è utilizzata per la predizione della composizione centesimale di campioni di latte di bovine. I vantaggi della tecnica MIRS sono quelli di poter determinare un carattere qualitativo del latte a bassi costi e in maniera rapida e su larga scala. L'analisi chemiometrica prevede una serie di elaborazioni statistiche che permettono di determinare, attraverso l'analisi degli spettri, dei nuovi caratteri di qualità del latte, le cui tecniche di determinazione classiche sono generalmente troppo costose per poter essere applicate su larga scala. La comunità scientifica ha rivolto negli ultimi anni parecchia attenzione all'utilizzo dell'analisi chemiometrica per lo sviluppo di modelli di predizione MIRS di caratteristiche qualitative innovative del latte vaccino. Recentemente, De Marchi et al. (2014) hanno revisionato le scoperte scientifiche in questo campo, evidenziando che la tecnica MIRS si è dimostrato abile nel predire il profilo lipidico del latte, il profilo proteico, l'acidità, le proprietà coagulative del latte, il profilo minerale e lo stato di salute delle bovine (BHB, stato energetico delle bovine). La letteratura scientifica, al momento, è caratterizzata da una mancanza di studi che dimostrino l'efficacia della tecnica MIRS per la predizione della resa di caseificazione. Obiettivo del presente lavoro è stato quello di sviluppare del modelli di calibrazione MIRS per la predizione della resa di caseificazione di campioni di latte in maniera rapida, a basso costo e applicabile su larga scala. Tale processo è stato possibile grazie ad uno sviluppo di una tecnica di campionamento e di codifica di ogni campione semplice e di facile applicazione, essendo la raccolta dati stata fatta in condizioni operative e non di laboratorio. Gli spettri di ogni campione di latte raccolti sono stati divisi e mediati per tipologia e giornata di produzione in modo da poter essere messi in relazione, tramite l'analisi chemiometrica, con dati di resa di caseificazione medi per giornata di produzione. I modelli di predizione MIRS delle due principali produzioni casearie del caseificio ospitante la prova (mozzarella per pizzeria e Casatella Trevigiana DOP) si entrambi caratterizzati da una moderata capacità predittiva della resa di caseificazione, dimostrando la capacità della tecnica MIRS nel predire la resa di caseificazione su campioni di latte prima che il latte stesso venga processato.

ABSTRACT

Cheese yield is a milk qualitative trait defined as the amount of cheese obtained from the processing of a specific amount of milk. It is the most important milk quality parameter for the cheese industry, since greater cheese yield is associated with a general improvement of the production efficiency. Moreover, keeping constant the amount of milk processed, a cheese yield increasing can lead to a lower production of whey (and therefore less money spend by the industry for whey disposal), as well as higher cheese production and, potentially, more profit. Anyway, quick and cost effective monitoring of cheese yield is a lack of knowledge for the entire cheese industry, and therefore it is not possible the determination of this qualitative trait on a large scale. Mid-infrared spectroscopy (MIRS) is a rapid and low cost lab technique that studies the interaction between electromagnetic radiation and physical matter in the region between 900 and 5,000 cm⁻¹. Large scale monitoring of milk quality traits is possible through MIRS. Chemometric analysis considers some statistics elaborations that permit the determination of novel milk quality traits from spectral data. Reference analysis of novel milk quality traits is normally too expensive for a large scale determination. In the last decade, the scientific community has financed many research projects whose aim was to develop MIRS prediction models for novel milk quality characteristics. Recently, De Marchi et al. (2014) reviewed scientific papers on MIRS development of innovative milk quality traits prediction models. Effectiveness of MIRS was demonstrated for predicting fatty acids composition, protein fractions composition, milk coagulation properties, milk acidity, mineral profile and cow health and energy status. No authors have reported effectiveness of MIRS in predicting cheese yield. Therefore, the aim of the present study was to quantify MIRS ability in predicting cheese yield. This process was effective due to a specific codification of milk samples, easy but precise, since data collection was carried out in field condition by the dairy industry operators. Milk samples spectra were averaged for day and typology of production, since reference data (cheese yield) were available only as the average for each day of production. Mid-infrared spectroscopy prediction models of the two main kind of cheese produced in the dairy industry that financed the project (mozzarella and Casatella Trevigiana PDO) were characterized by moderate predicting ability. The present study demonstrated MIRS effectiveness in predicting cheese yield prior to milk processing.

INTRODUZIONE

La produzione mondiale di latte bovino ha visto, nell'ultimo decennio, un constante incremento medio di produzione annuo del 2% e, al 2012, si attestava a valori superiori alle 600 milioni di t. L'Unione Europea (UE) è stata caratterizzata, nell'ultimo trentennio, da un regime di produzione che imponeva un limite massimo (150 milioni di t) alla produzione comunitaria di latte vaccino (quote latte). Da qui si evince che: i) l'incremento della produzione mondiale di latte non è dipendente dalla produzione comunitaria, che per scelte di mercato ha deciso, infatti, di mantenere una produzione costante, ii) il contributo dell'UE alla produzione di latte non è marginale (circa 25%) ma non apporta nemmeno un contributo decisivo. Circa il 7% della quota totale comunitaria spettava all'Italia, la cui produzione annua di latte si attestava sui 10 milioni di t. La regione Veneto contribuisce, a sua volta, al 10% della produzione nazionale (1 milione di t). Tuttavia, prendendo in esame dati relativi alla produzione di formaggi, il ruolo della UE diventa estremamente decisivo. L'UE, infatti, contribuisce con più di 8 milioni di t di formaggi prodotti annualmente, a circa il 50% dell'intera produzione mondiale. Questo permette di capire che l'UE si è specializzata sempre più nel fornire valore aggiunto alla materia prima (latte). I Paesi comunitari con la più spiccata attitudine nel fornire tale valore aggiunto sono quelli con una maggiore propensione industriale, ma che allo stesso tempo sono caratterizzati, per ragioni sociali e storico-culturali, da una tradizionale propensione alla trasformazione casearia di prodotti ad alta qualità e protetti da certificazione di origine. In ordine di produzione, questi tre Paesi sono Germania, Francia ed Italia. In particolare, Francia ed Italia occupano rispettivamente il primo (48) e secondo (44) per numero di formaggi tutelati da marchio di certificazione di origine, di cui 43 formaggi tutelati a marchio DOP (denominazione di origine protetta) per entrambi i Paesi, e 1 e 5 formaggi tutelati a marchio IGP (indicazione geografica protetta) rispettivamente per Italia e Francia.

La realtà italiana è dunque caratterizzata dalla capacità di produrre da una commodity altamente riproducile e scarsamente differenziabile, quale il latte, prodotti di eccellenza che denotano il legame al territorio, e quindi alla storia e alle tradizioni, del prodotto finito (formaggio). Il settore lattiero-caseario rappresenta perciò uno dei settori di primaria importanza, in termini di redditività, del comparto primario (agricoltura). Più del 70% della produzione annua di latte italiano è destinato alla trasformazione casearia, e tale percentuale è leggermente inferiore alla percentuale di latte trasformato nel Veneto (75%). La realtà zootecnica da latte regionale ha visto, negli ultimi decenni, una riduzione del numero di allevamenti ma un aumento del numero di capi di bestiame per allevamento. Ad oggi, infatti, il 37% degli allevamenti veneti produce più dell'80% della produzione totale di latte regionale. Inoltre, il 55% della produzione regionale di latte è detenuto da imprese Società Agricole Cooperative. Il settore lattiero-caseario Veneto si è organizzato anche in distretto produttivo industriale che dal 2004 ha avviato una marcata azione volta alla specializzazione produttiva dell'intero comparto con progetti imperniati esclusivamente su attività di

ricerca, di sviluppo e di trasferimento tecnologico che ha coinvolto l'intera filiera: dalla stalla, alla trasformazione e commercializzazione. In particolare l'impegno è stato concentrato sullo sviluppo dell'efficienza nella trasformazione casearia e nella conoscenza delle relazioni fra il profilo fisico-chimico-biologico della materia prima, e la tecnologia di caseificazione in relazione alle caratteristiche reologiche del prodotto finito destinato al consumo.

I punti di forza del settore zootecnico da latte veneto sono: i) buona qualità della materia prima (latte), ii) ampia gamma di formaggi e latticini anche a marchio di qualità, iii) siti di trasformazione lattiero-casearia di eccellenza, iv) impianti di confezionamento adeguati alla richieste del mercato: monoporzioni, porzioni a peso fisso. D'altra parte, le maggiori criticità si hanno in: i) scarso ricambio generazionale, ii) frammentazione dell'offerta, iii) scarsa ed insufficiente attenzione all'area dell'innovazione, iv) gamma di prodotti basata principalmente sulla tradizione, v) poca attenzione ai nuovi bisogni dei consumatori in termini di valori funzionali e nutritivi dei prodotti. L'ottimizzazione dei punti appena menzionati è legata ad una raccolta routinaria delle informazioni riguardanti tutti i processi all'interno degli stabilimenti di produzione; l'analisi on-line di queste informazioni permetterà un aumento dell'efficienza dell'intera struttura, in quanto rappresenta una soluzione direttamente fruibile per il raggiungimento degli scopi prefissati. La raccolta routinaria on-line è raggiungibile mediante l'utilizzo della spettroscopia nel medio infrarosso (MIRS).

SPETTROSCOPIA NEL MEDIO INFRAROSSO

La spettroscopia nel medio infrarosso è una tecnica che studia le interazioni della luce (più propriamente, della radiazione elettromagnetica nella regione del medio infrarosso) con la materia. Il risultato di ogni analisi effettuata è lo spettro (Fig.1), che è una rappresentazione grafica dell'intensità della luce (energia assorbita, detta assorbanza) misurata in funzione di alcune sue proprietà, quali la lunghezza d'onda (λ) o il numero d'onda (ν). L'analisi dello spettro permette di indentificare quali molecole sono presenti in un campione e a quali concentrazioni (Smith, 2011).

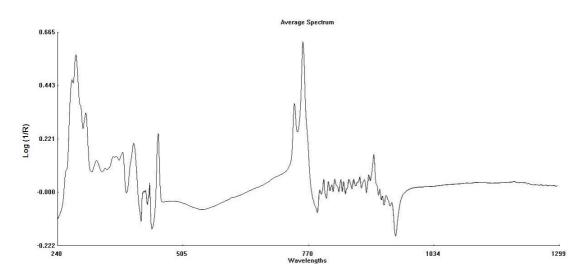
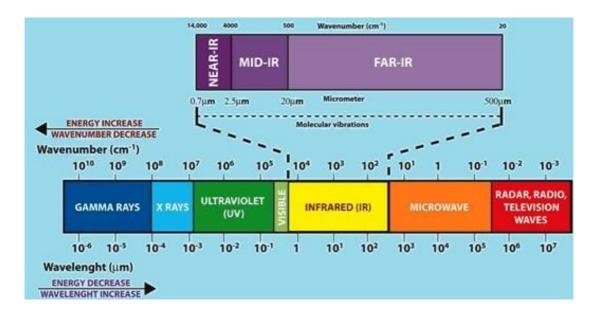


Figura 1: Spettro di un campione di latte (Milkoscan FT2 - Foss Electronic A/S, Hillerød, Danimarca).

La lunghezza d'onda viene espressa in cm e rappresenta la distanza tra due punti omologhi della forma d'onda, mentre il numero d'onda è il numero di onde per unità di lunghezza ($v = 1/\lambda$) ed è perciò espresso in cm⁻¹ (Halliday *et al.*, 2005). La regione dello spettro infrarosso comprende i numeri d'onda compresi tra 14.000 e 20 cm⁻¹ (Fig.2) e si divide in: vicino infrarosso (14.000-4.000 cm⁻¹, NIR), medio infrarosso (4.000-500 cm⁻¹, MIR) e lontano infrarosso (500-20 cm⁻¹) (Pellizon Birelli e Fazio, 2005) . La tecnica del MIRS si basa sulla capacità di ogni composto chimico di assorbire, trasmette o riflettere la radiazione luminosa. Nello specifico, l'assorbimento della radiazione infrarossa da parte delle molecole produce dei moti vibrazionali definiti come *stretching* (stiramento, che può essere simmetrico o asimmetrico) e *bending* (piegamento). Un campione irradiato, infatti, assorbe l'energia selettivamente in funzione della specifica frequenza di vibrazione delle molecole, e si crea in questo modo lo spettro di assorbimento. Tali spettri presentano due regioni specifiche, la zona dei gruppi funzionali (gruppo ossidrilico –OH, gruppo estereo –COOR, gruppo carbossilico –COOH, gruppo amminico –NH₂ ed è compresa tra 4.000 e 1.250 cm⁻¹) e quella delle impronte digitali (compresa tra 1.250 e 700 cm⁻¹ e deve il suo nome alla presenza di bande strettamente caratteristiche di ciascuna singola molecola) (Pellizon Birelli e Fazio, 2005; maps.unipd.it). In riferimento alla

Fig.1, quindi, nell'asse delle ascisse viene indicato il numero d'onda (o la lunghezza); nell'asse delle ordinate è indicata la risposta strumentale, l'assorbanza (A). Si tratta di un parametro fondamentale poiché è l'unità di misura della radiazione infrarossa: è un valore che, in accordo con la legge di Lambert-Beer, è direttamente proporzionale alla concentrazione (c) della molecola assorbente contenuta nel campione.

Figura 2: Regioni spettrali della radiazione elettromagnetica con espansione della regione infrarossa (Pellizon Birelli e Fazio, 2005).



$$A = \epsilon^* b^* c = \log I_0 / I$$

 ϵ è una costante ed è detto coefficiente di assorbimento molare, b è la lunghezza del cammino percorso dalla radiazione attraverso il campione e c è, appunto, la concentrazione della molecola. Questa equazione è uguale anche al logaritmo del rapporto tra l'intensità della radiazione incidente (I_0) e la radiazione trasmessa attraverso il campione (I_0). È dimostrabile, quindi, che l'assorbanza è il logaritmo dell'inverso della trasmittanza (I_0).

Se rispettano le seguenti condizioni:

- i) Identificazione esaustiva delle molecole presenti;
- ii) Almeno una delle bande di vibrazione relative a ciascun componente di cui si desidera quantificare la concentrazione deve essere isolata e definita;
- iii) Non vi siano deviazioni dalla legge di Lambert-Beer;

la spettroscopia nel medio infrarosso permette di effettuare l'analisi quantitativa di composti organici in un campione (Pellizon Birelli e Fazio, 2005).

Questo tipo di tecnologia presenta numerosi vantaggi, tra i quali: i) possibilità di analizzare ridotte quantità di campione tal quale (tecnica non distruttiva), ii) spettri ricchi di informazioni dai quali si possono predire numerosi parametri, iii) velocità, iv) semplicità nello svolgimento dell'analisi, v) bassi costi (Smith, 2011).

Mediante l'utilizzo di tecniche di analisi statistica (partial least square regression, PLS) è possibile poter sviluppare, a partire dagli spettri, dei modelli di predizione che permettano di poter predire a priori un nuovo carattere di qualità del latte.

Attualmente, la tecnologia MIRS viene utilizzata routinariamente per il monitoraggio della composizione centesimale del latte (grasso, proteina, caseina, lattosio, solidi totali) sia all'interno dell'industria casearia, sia a livello di controlli funzionali. Questa tecnologia permette, inoltre, la possibilità di stoccare tutti gli spettri di analisi, che potranno essere utilizzati in futuro per lo sviluppo di nuovi modelli di predizione.

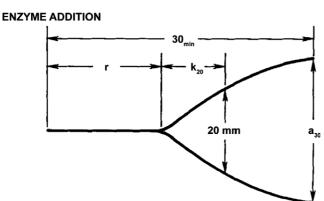
La review scritta da De Marchi et al. (2014) riassume tutti i lavori presenti nella lettura scientifica riguardo l'utilizzo della tecnologia MIRS nel predire nuovi parametri, in particolare è stato dimostrato che tale tecnologia si può utilizzare per la predizione di: frazioni proteiche, profilo acidico, proprietà coagulative del latte, profilo minerale, stato energetico delle bovine, emissioni di metano, identificazione di residui nel latte (antibiotici o trattamenti illeciti, quali aggiunta di melamina).

PARAMETRI IMPORTANTI NELLA TRASFORMAZIONE CASEARIA: RESA DI CASEIFICAZIONE E PROPRIETA' COAGULATIVE DEL LATTE

La resa casearia può essere definita in differenti modi; la definizione classica considera la quantità di formaggio, espressa in chilogrammi, che si ottiene dalla caseificazione di 100 kg di latte con una determinata composizione in grasso e proteine (Salvadori del Prato, 2001). Tuttavia, come propone Banks (2007), questa definizione risulta essere poco accurata, poiché non considera tutti gli input della trasformazione casearia. Per questo, lo stesso Banks ne propone una diversa (Ya), in cui si considera sì la quantità di formaggio sulla quantità iniziale di latte, ma anche sul peso del sale e delle colture starter inziali, esprimendo il risultato finale in percentuale. La resa di caseificazione è indubbiamente il parametro di maggiore importanza per l'industria casearia da un punto di vista economico, in quanto più solidi si riescono a recuperare, maggiore sarà la quantità di formaggio prodotta e di conseguenza gli introiti aziendali, perciò piccole differenze tra rese si possono tradurre in grandi differenze di profitti (Formaggioni et al., 2008; El-Gawad e Ahmed, 2011). I parametri lattodinamografici, invece, definiscono l'attitudine del latte a coagulare in presenza di caglio, e comprendono tempo di coagulazione (RCT o r, min), tempo di rassodamento (k₂₀, min) e consistenza del coagulo (a₃₀, mm). RCT è definito come il tempo che intercorre tra l'aggiunta del caglio e la formazione del primo flocculo caseoso; k₂₀ è il tempo tra la formazione del primo fiocco ed il raggiungimento di una consistenza standard con un'ampiezza della forbice del tracciato di 20 mm; a₃₀ è l'ampiezza della forbice dello stesso dopo 30 minuti dall'inizio del test ed esprime la consistenza della cagliata ad un tempo standard (Salvadori del Prato, 2001).

Figura 3: Diagramma della coagulazione e della consistenza Tradizionalmente, le proprietà coagulative del coagulo in funzione del tempo utilizzando il Formagraph (Foss Electronic A/S, Hillerød, Danimarca) (McMahon e Brown, 1982).

latte venivano determinate grazie un



lattodinamografo, come il Formagraph (Foss Electronic A/S, Hillerød, Danimarca), in cui si immerge in un pozzetto contenente un campione di latte (10 mL) un pendolo che viene fatto oscillare. Di conseguenza, si misurano le forze che agiscono sul pendolo man mano che il latte inizia a coagulare; al termine dell'analisi, la cui durata è di 30 minuti, si ottiene un grafico come quello

illustrato nella Fig.3 (McMahon e Brown, 1982). Recentemente, sono state proposte delle nuove tipologie di misura di tali caratteri basati sulla predizione con la spettroscopia nel medio infrarosso (Dal Zotto et al., 2008; De Marchi et al., 2009a); inoltre, possono essere utilizzate strumentazioni che lavorano nel vicino infrarosso (NIR) quali l'Optigraph (Ysebaert, Frépillon, Francia), sebbene i valori che si ottengono risultano essere leggermente differenti rispetto al *gold standard* Formagraph.

Fattori che influenzano la resa casearia

In numerosi lavori sono stati studiati i fattori che influenzano la resa, e solitamente vengono divisi in due principali gruppi: il primo comprende quelli dipendenti dalla **composizione iniziale del latte**, il secondo quelli dipendenti dalla **tecnologia di produzione** (Banks, 2007; Formaggioni *et al.*, 2008; El-Gawad e Ahmed, 2011).

Tra i fattori del primo gruppo sono compresi:

Composizione del latte: contenuto in proteine, grasso e loro rapporto: è interessante notare come già al termine del XIX sec. erano noti gli effetti favorevoli, in termini di resa, che potevano portare il contenuto in caseina e grasso. Nel loro lavoro, infatti, Emmons e Modler (2010), sostengono che la prima formula di predizione della resa proposta da Babcock (1895) fosse data dalla percentuale di grasso moltiplicata per 1,1 a cui è da aggiungersi la percentuale di caseina moltiplicata per 2,5. In accordo con Banks (2007) le caseine e il grasso costituiscono il 94% della sostanza secca nel formaggio Cheddar, per cui maggiore è il loro recupero nella cagliata, maggiore sarà la resa. Tuttavia, le caseine giocano un ruolo più importante del grasso poiché concorrono a formare la struttura della cagliata in cui poi, appunto, si inglobano l'umidità e il grasso stesso. L'importanza delle caseine viene dimostrata anche nello studio effettuato da Barbano e Sherbon (1984) sul Cheddar, sostenendo che basse rese sono dovute ad una loro bassa concentrazione, a cui però è da aggiungersi un basso rapporto caseina/grasso ed una eccessiva rottura del coagulo, così come in quello condotto, sul Parmigiano Reggiano, da Malacarne et al. (2006) in cui il coefficiente di correlazione tra resa e caseina risulta essere di 0,88. Verdier-Metz et al. (2001), invece, dimostrano una relazione pressoché lineare tra contenuto in proteina e grasso e resa in sostanza secca della cagliata, con un R² di 0,87. Tuttavia, oltre all'importanza della composizione iniziale del latte, un ruolo fondamentale è giocato anche dall'indice caseina (N caseina*100/N totale) e dal rapporto grasso/proteina. È evidente come un latte con un maggior indice di caseina possa portare ad effetti positivi sulla resa, come dimostrato nel confronto tra latte di Frisona Italiana e Modenese condotto da Summer et al. (2002), considerando le produzioni di Parmigiano Reggiano. Per quanto riguarda il rapporto grasso/caseina, è rilevante lo studio di Guinee et al. (2007) sul formaggio Cheddar in cui è stato dimostrato che, mantenendo costante il livello di proteina al 3,69 ± 0,09%, se tale rapporto aumenta, e quindi di fatto si ha una riduzione del grasso, la cagliata che si ottiene ha un aumento significativo in termini di umidità, proteine, Ca e P, ma in termini di resa si ha una sua riduzione. In accordo con Banks (2007), nella produzione del formaggio Cheddar, il rapporto ideale caseina/grasso dovrebbe essere di 0,7:1. Si può dedurre, quindi, che le fonti di

variazione della composizione del latte possono, seppur indirettamente, influenzare la resa in formaggio. A tale riguardo, la letteratura è particolamente vasta ad articolata. Se si considera, per esempio, l'effetto razza sulla composizione del latte, in due recenti lavori italiani effettuati confrontando le produzioni di Frisona Italiana e di Bruna Italiana (Malacarne *et al.*, 2006; De Marchi *et al.*, 2008), risulta evidente come il latte di Bruna, essendo più ricco in proteina, caseina e acidità titolabile e migliori MCP, potrebbe portare ad avere rese in formaggio più alte. Anche il latte di bovine di razza Modenese presenta caratteristiche favorevoli per l'ottenimento di alte rese casearie, essendo caratterizzato da una maggiore quantità di caseina e di sue frazioni favorevoli la coagulazione (k caseina B, β lattoglobulina B) rispetto al latte di Frisona (Summer *et al.*, 2002). Una notevole importanza sulla composizione del latte è ricoperta anche dall'alimentazione, sia per quanto riguarda la componente lipidica del latte (Palmquist *et al.*, 1993; Jenkins e McGuire, 2006) sia per quella proteica (DePeters e Cant, 1992; Jenkins e McGuire, 2006).

- Varianti caseiniche: una certa importanza è ricoperta anche dalle varianti e dal polimorfismo genetico dalle caseine: numerose ricerche, infatti, sono state condotte in questo ambito (Losi et al., 1973; Maziali e Ng-Kwai-Hang, 1986; Wedholm et al., 2006; Banks, 2007; Caroli et al., 2009). È stata dimostrata l'importanza della k caseina, poiché una sua bassa concentrazione e un suo basso rapporto con la caseina totale sono associate ad una riduzione delle proprietà coagulative del latte. Questa variante, infatti, si trova principalmente sulla superficie delle micelle caseiniche ed è il principale substrato della chimosina. È rilevante anche il polimorfismo genetico della k caseina in quanto il genotipo BB, rispetto al genotipo AA, è associato ad un minor tempo di coagulazione e di rassodamento e ad una maggiore consistenza del coagulo e per questo, in accordo con Maziali e Ng-Kwai-Hang (1986), si possono attuare dei programmi di miglioramento genetico in questa direzione. Esistono tuttavia anche degli alleli della k caseina che hanno degli effetti ancora più negativi rispetto all'allele A sulla caseificazione, ed è il caso dell'allele G, che comunque è raro ed è stato indentificato nelle bovine di razza Pinzgauer (Erhardt et al., 1997), e dell'allele E identificato nella Frisona italiana (Caroli et al., 2000). Più in generale, il latte più adatto alla caseificazione è quello che presenta alte concentrazioni di α_{s-1} , β e k caseina, alto rapporto k caseina/caseina totale e β lattoglobulina B (Wedholm et al., 2006; Banks, 2007). Tuttavia, uno studio condotto da Bonfatti et al. (2011a) su Montasio, Asiago e Caciotta lavorando diversi tipi di latte ma con livelli simili di caseina, dimostra che la k caseina B ha un effetto indiretto sull'aumento della resa, nel senso che un suo aumento aumenta la quantità totale di k caseina, e che quindi l'incremento della resa è dovuto essenzialmente ad un suo incremento generale.
- Conteggio di cellule somatiche (SCC): un elevato SCC si osserva nel latte proveniente da bovine affette da mastite, l'infiammazione della ghiandola mammaria; ne esistono di due tipi, clinica e subclinica. La prima è direttamente visibile nella bovina poiché si manifesta tramite gonfiore delle mammelle e si ha la presenza di flocculi o coaguli nel latte; la seconda non è direttamente osservabile sull'animale o sul latte e

richiede un test diagnostico per essere indentificata. La determinazione dell'SCC è quindi un ottimo indicatore dello stato di salute della bovina (Banks, 2007). È uno dei quattro parametri, assieme a contenuto in grasso, proteina e carica microbica, che va a concorrere negli schemi di pagamento a qualità tradizionali del latte. Tuttavia, è il fattore che va ad influenzare maggiormente il valore finale del latte alla stalla.

Dati forniti dall'Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Lombardia e dell'Emilia Romagna (centro di referenza nazionale per la qualità del latte bovino) suggeriscono che un latte che supera la soglia di 50.000 N/mL viene pagato 26 centesimi in meno al quintale. Se si superano le 400.000 N/mL la penalizzazione è

Tabella 1: Schemi di pagamento qualità del latte (fonte: Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Lombardia e dell'Emilia Romagna).

Parametro	Valore	Soglia	Premio/Penalizzazione
Grasso (g/dL)	<	3,70	- 0,02065 €/q
per linea	3,70	3,80	0,00000
centesimale	>	3,80	+ 0,02065 €/q
Proteine (g/dL)	<	3,25	- 0,04648 €/q
per linea	3,25	3,30	0,00000
centesimale	>	3,30	+ 0,04648 €/q
	<	150.000	+ 0,51646 €/q
	150000	300.000	+ 0,25823 € /q
SCC/mL	300001	350.000	0,00000
	350001	400.000	- 0,25823 €/q
	>	400.000	- 0,51646 €/q
Carica	<	30.000	+ 0,20658 €/q
batterica	30000	100.000	0,00000
UFC/mL	>	100.000	- 0,51646 €/q

ancora più alta: -52 centesimi al quintale più e annullamento di eventuali premi per le proteine. D'altra parte, se l'SCC è compresa tra 150.000 e 300.000 N/mL, il premio è di 0,26 €/q, mentre se risulta essere inferiore a 150.000 N/mL il premio è di 0,52 €/q (Tab.1).

In letteratura sono presenti numerosi lavori sul legame tra SCC e resa (Politis e Ng-Kwai-Hang, 1988; Barbano *et al.*, 1991; Klei *et al.*, 1998; Banks, 2007; Kelly, 2007; Mazal *et al.*, 2007; Formaggioni *et al.*, 2008; El-Gawad e Ahmed, 2011). È stato dimostrato che il livello soglia oltre il quale si iniziano ad osservare cali nella stessa è di 100.000 N/mL, e quindi un aumento del SCC da 100.000 fino 500.000 N/mL è associato ad una sua riduzione compresa tra il 5 e l'11%, ad un aumento dell'attività proteolitica e delle proteine del siero (in particolare sieroalbumine e

immunoglobuline) e ad una più bassa concentrazione di grasso e caseine con conseguente riduzione dell'indice caseina. Klei *et al.* (1998) riportano anche una riduzione della produzione di latte del 5% e una riduzione del contenuto di lattosio. Inoltre, tutti gli studi convergono sul fatto che maggiore è il conteggio in cellule somatiche, maggiore è il pH (e di conseguenza si abbassa l'acidità titolabile) e l'attività plasminogena, con conseguenze proteolitiche sulle caseine; queste condizioni, associate ad un elevato SCC hanno effetti negativi sulla trasformazione casearia (Politis e Ng-Kwai-Hang, 1988). A tale riguardo, in accordo con Banks (2007), un SCC superiore di 200.000 N/mL, porta ad un calo del pH per la presenza di proteasi all'interno delle cellule somatiche. Per quanto riguarda la cagliata, si ha un aumento dell'umidità ma un calo delle proteine, essendo il loro recupero, durante la caseificazione, più basso (Klei *et al.*, 1998). Nello specifico, in uno studio condotto in Brasile sul formaggio Prato da Mazal *et al.* (2007), evidenzia che

un elevato SCC, favorendo una maggiore umidità della cagliata ed un aumento della proteolisi, ha effetti negativi anche sulle qualità sensoriali del formaggio stesso.

Effetto stagionale e della lattazione: in bibliografia sono disponibili alcuni lavori riguardanti le variazioni stagionali della resa (Barbano e Sherbon, 1984; Bruhn e Franke, 1991; Sapru et al., 1997; Formaggioni et al., 2004; Banks, 2007; Formaggioni et al., 2008; El-Gawad e Ahmed, 2011). Tali variazioni, infatti, rispecchiano le variazioni stagionali della composizione del latte, in particolare per quanto riguarda il grasso e la caseina. Sebbene i vari lavori citati siano stati condotti su differenti tipi di formaggi, come il Cheddar (Barbano e Sherbon, 1984; Bruhn e Franke, 1991), il Monterey Jack (Bruhn e Franke, 1991), il Parmigiano Reggiano (Formaggioni et al., 2004) e il Trentingrana, tutti convengono sul fatto che le rese più basse si osservano in corrispondenza dei mesi estivi (giugno, luglio e agosto). Queste variazioni sono dovute soprattutto a cambi della dieta e a fattori climatici (Henk et al., 2009). In tutti gli studi si osserva, inoltre, che la componente che più risente dell'effetto stagionale è quella lipidica. Infine, Sapru et al. (1997), investigando sull'effetto della frequenza di mungitura e dello stadio di lattazione sulla resa, hanno dimostrato che, a seguito del picco di lattazione in cui si raggiungono le minori percentuali delle componenti lipidiche e proteiche, più si avanza nella lattazione, più aumentano le percentuali di grasso, proteina e caseina, ma si ha una riduzione del suo indice; con una frequenza di mungitura, invece, di 3 volte al giorno si ha una riduzione del grasso e della caseina. Inoltre, i recuperi di tali componenti nella cagliata sono più bassi nel latte di bovine a fine lattazione, tuttavia, essendo più ricco in caseina e grasso, tale latte porta a rese più alte rispetto a quello di inizio lattazione.

Tra i fattori dipendenti dalla tecnologia di produzione, sono da ricordare:

- Stoccaggio del latte: in accordo con Hicks et al. (1986), la temperatura e il tempo di stoccaggio del latte possono avere effetti negativi sulla resa. Questo è sostanzialmente legato al fatto che, soprattutto quando le condizioni igieniche di partenza non sono ottimali, si può sviluppare una flora microbica psicrotrofa con attività proteolitica e lipolitica; gli autori pongono come livello soglia una concentrazione di 10⁶ UFC/mL. Come conseguenza, si avranno meno recuperi di grasso e proteine nella cagliata. Gli autori quindi suggeriscono una maggiore qualità microbiologica del latte in entrata, uno stoccaggio del latte a 2 °C ed una riduzione della sua durata. Effetti ancora più negativi sulle proteine si hanno quando viene stoccato per più giorni un latte con un elevato SCC (Klei et al., 1998).
- Standardizzazione del latte: la standardizzazione del latte dà l'opportunità, al produttore, di modificare la composizione del prodotto finito (formaggio) attraverso la modifica della prodotto iniziale (latte); si fa per rispettare determinati livelli di composizione definiti da normativa o per aumentare la resa finale (El-Gawad e Ahmed, 2011) e per risolvere il problema legato alle variazioni stagionali della

composizione del latte (Banks, 2007). In una recente ricerca, Guinee *et al.* (2006) hanno condotto un prova aumentando il tenore proteico dal 3,3% al 3,6% e dal 3,3% al 4,0% con l'utilizzo di fosfocaseina, proteine del latte concentrate e retentato, dimostrando la loro efficienza nell'aumento del recupero di grasso e proteine nella cagliata e quindi della resa. È stato inoltre confermata nuovamente una relazione lineare tra aumento della proteina e aumento della resa.

- *Tipologia di coltura starter*: in accordo con Banks (2007), la quantità di caseina non recuperata nella cagliata dipende anche dall'attività proteolitica del ceppo batterico utilizzato come starter. L'utilizzo di ceppi starter proteinasi negativi aumenta la sostanza secca nel formaggio Cheddar dall'1,4% al 2,4% in più. Tuttavia, hanno una velocità di crescita molto più bassa rispetto ai batteri proteinasi positivi, e quindi si ha un rallentamento del calo del pH e della formazione del flavour; la soluzione più vantaggiosa, perciò, per l'industria casearia è quella di utilizzare tali ceppi batterici in associazione.
- Trattamenti termici: la pastorizzazione può avere effetti positivi sulla resa. Infatti, in accordo con Lau et al. (1990), in uno studio effettuato sul Cheddar, la pastorizzazione (63 °C per 30 minuti) non ha effetto sul recupero del grasso, ma aumenta quello delle proteine. Infatti, il 5% delle proteine del siero, presumibilmente la β lattoglobulina, si associano con le micelle caseiniche. Questo porta ad un aumento della resa di 0,01-0,04 kg con una resa di riferimento di 10 kg Cheddar/100 kg latte.
- *Omogeneizzazione*: questo processo porta ad un aumento del recupero di grasso e umidità, probabilmente per la modifica alla struttura del coagulo e per la riduzione delle dimensioni dei globuli di grasso (El-Gawad e Ahmed, 2011). Gli stessi autori citano inoltre un lavoro effettuato da Ghosh *et al.* (1999), in cui viene dimostrato che l'omogeneizzazione a 35 bar accompagnata alla pastorizzazione porta ad avere migliori recuperi di solidi ed umidità, e di conseguenza rese più alte. Risultati simili sono stati ottenuti anche in un più recente lavoro condotto da Zamora *et al.* (2007) attraverso l'UHPH (*Ultra High Pressure Homogenization*).
- *Tipologia di caglio utilizzato*: a riguardo è interessante il lavoro effettuato da Ustunol e Hicks (1990) in cui sono stati messi a confronto vari tipi di enzimi proteolitici rispetto all'azione della classica rennina. Non sono state osservate differenze di resa significative tra la chimosina e altre proteasi di origine animale. L'unica proteasi che evidenzia cali significativi è quella ottenuta dalla specie fungina di *Endothia parasitica*, in quanto è caratterizzata da un'attività proteolitica molto elevata che porta ad avere troppa umidità nella cagliata ed un più basso recupero di solidi. Gli autori riportano che questo enzima veniva spesso usata nelle (ri)produzioni, americane, di formaggi tipici italiani.
- Consistenza del coagulo alla rottura: nel già citato lavoro di Barbano e Sherbon (1984) viene inserito, tra i fattori che possono portare a rese più basse, una rottura eccessiva del coagulo. In uno studio più recente di Fagan et al. (2007) viene dimostrato che l'ottimizzazione della consistenza del coagulo al

momento della sua rottura può influire sull'umidità della cagliata e sulla perdita di grasso col siero. Gli autori suggeriscono che l'ottimizzazione della ritenzione di solidi si ha all'interno di una *range* di temperatura tra 28 e 35 °C, con un più corto t_{cut} (*cutting time*) ed un più alto livello di aggiunta di CaCl₂. Se la rottura del coagulo avviene troppo presto, si ha una sua frantumazione e ed una eccessiva perdita di grasso, con conseguente calo della resa; se invece la rottura avviene quando il coagulo è troppo aggregato si ha una eccessiva perdita di caseine e di conseguenza si avrà ancora una diminuzione della produzione di formaggio (El-Gawad e Ahmed, 2011).

• Aggiunta di sale e perdite di umidità durante la maturazione: in accordo con El-Gawad e Ahmed (2011), la maturazione del formaggio causa cali della resa per le perdite di umidità tramite evaporazione. Questo processo è influenzato dall'umidità relativa dell'aria e dalla temperatura della sala di maturazione. Il sale, invece, ha effetti sulla capacità di legare acqua della matrice caseinica e sulla sua tendenza alla sineresi (Guinee, 2007).

Legame tra resa casearia e proprietà coagulative del latte

Le proprietà coagulative del latte (MCP) hanno un effetto rilevante sulla resa in formaggio (Aleandri *et al.*, 1989; Formaggioni *et al.*, 2004; De Marchi *et al.*, 2007; Formaggioni *et al.*, 2008; De Marchi *et al.*, 2009); in aggiunta, ricoprono un'importanza economica importante in quanto l'allungamento del tempo di coagulazione aumenta i costi di produzione del formaggio e di conseguenza riduce i profitti del caseificio (Mazal *et al.*, 2007). Un coagulo più consistente porta infatti ad una diminuzione delle perdite in grasso e proteine (Formaggioni *et al.*, 2004). Fenotipicamente, le due proprietà principali, RCT e a_{30} , hanno una correlazione che risulta essere alta e negativa (-0,76) quindi, al diminuire del tempo di coagulazione è verosimile l'ottenimento di un coagulo più consistente (Cassandro *et al.*, 2008). Gli stessi autori, in uno studio condotto sulla Frisona Italiana, stimano una ereditabilità dell'RCT di 0,25 \pm 0,04, mentre quella dell'a₃₀ risulta essere di 0,15 \pm 0,03. D'altra parte, Vallas *et al.* (2010), in un lavoro simile sulla Frisona Estone, non confermano tali valori (rispettivamente 0,28 \pm 0,04 e 0,41 \pm 0,04), ma questo è probabilmente dovuto a differenze genetiche tra le due popolazioni. Tuttavia in entrambe le ricerche vengono confermate basse correlazioni tra MCP e produzione di latte e suoi componenti, quindi la selezione per tali caratteri non dovrebbe avere effetti negativi sulle *performance* produttive delle bovine.

In letteratura si possono trovare vari lavori sulle differenti MCP considerando l'effetto razza. Sono state confrontate le differenze fra le razze Frisona, Bruna, Simmental, Grigia Alpina e Rendena (De Marchi *et al.*, 2007), tra Frisona e Modenese (Summer *et al.*, 2002) e tra Frisona e Bruna (Malacarne *et al.*, 2006; De Marchi *et al.*, 2008). Gli studi convengono sul fatto che mediamente il latte di Frisona risulta essere quello meno adatto alla trasformazione poiché è caratterizzata da elevato RCT, da basso a₃₀ e presenta le più alte

percentuali di latti non coagulanti con i normali test da laboratorio (Formagraph). Nello studio di De Marchi *et al.* (2007) viene dimostrato che la Rendena è la razza con i livelli più bassi di RCT e i livelli più alti di a₃₀. Più in generale, le razze dell'Europa centro meridionale, e in particolare delle regioni dell'arco alpino, presentano MCP migliori rispetto a quelle centro settentrionali.

Un altro fattore in grado di influenzare le MCP sono le proteine del latte e le loro varianti genetiche. Un latte con una bassa concentrazione di k caseina e con un suo basso rapporto rispetto alla caseina totale è associato a proprietà coagulative scarse o adirittura assenti (Wedholm et~al., 2006). Gli stessi autori concludono che il miglioramento delle MCP può avvenire attraverso la selezione di bovine con una più alta concentrazione di α_{s-1} , β e k caseina, alto rapporto k caseina/caseina totale e β lattoglobulina B nel latte. Per quanto riguarda il ruolo delle varianti genetiche della k caseina, come riportato nella *review* di Caroli et~al. (2009), ha effetti positivi sulle MCP il genotipo BB rispetto al genotipo AA, mentre gli eterozigoti (AB) presentano caratteristiche intermedie. Come per la resa, l'allele G (identificato nella Pinzgauer, Erhardt et~al., 1997) e l'allele E (identificato nella Frisona Italiana, Caroli et~al., 2000) delle k caseine hanno effetti negativi sulle proprietà coagulative del latte. La β caseina B e la β lattoglobulina B sono anch'esse associate a migliori risultati e per questo, per ottenere buone MCP, le bovine dovrebbero avere almeno un allele B sia per la β sia per la k caseina (Caroli et~al., 2009).

Numerose ricerche dimostrano anche una relazione tra MCP, SCC, pH e acidità titolabile. Basso RCT ed alto a₃₀ sono associati a basso pH, alta acidità titolabile e a basso SCC (Ikonen *et al.*, 2004; Malacarne *et al.*, 2006; De Marchi *et al.*, 2007; Cassandro *et al.*, 2008; Vallas *et al.*, 2010; Cecchinato *et al.*, 2011; Pretto *et al.*, 2013).

Alcuni autori hanno investigato anche l'effetto stagionale, di lattazione e dell'ordine di parto sulle MCP. In accordo con Formaggioni *et al.* (2004), il tempo di coagulazione e la consistenza del coagulo più idonei si hanno in primavera, mentre i valori più alti, e meno adatti alla caseificazione, sono stati osservati d'estate. Sempre in questa stagione è stato osservato il peggiore k₂₀. Vallas *et al.* (2010) osservano che, al procedere dei giorni di lattazione, l'RCT aumenta fino a stabilizzarsi intorno ai 180 giorni, per poi calare leggermente. L'a₃₀ invece ha valori più bassi ad inizio lattazione per poi aumentare man mano che si procede a fine lattazione. Ikonen *et al.* (2004) osservano anche valori peggiori di MCP nelle primipare rispetto alle pluripare, ma questo sembra sia dovuto a maggior percentuali di latti non coagulanti nelle bovine al primo parto. Infatti, se si considerano solo i campioni di latte coagulanti, non vengono dimostrate differenze significative, quindi il suo effetto risulta essere contradditorio. Si può quindi concludere che la maggior parte dei fattori legati alle variazioni della composizione del latte influenzano sia la resa sia le proprietà coagulative del latte.

OBIETTIVI E SCOPI DEL PROGETTO

Il processo di caseificazione è la trasformazione del latte (materia prima) in formaggi e latticini grazie all'intervento di coadiuvanti quali il caglio, il sale e i fermenti lattici. In questo processo interagiscono in vario modo i singoli componenti del latte: materia grassa con i suoi costituenti, la frazione proteica con i relativi costituenti, la flora microbica ed eventuali coadiuvanti. Degno di nota è infine il ruolo del valore del pH della miscela. Ottenere un processo di caseificazione con la maggior efficienza possibile (resa casearia: kilogrammo di prodotto per kilogrammo di materia prima impiegata) è l'aspirazione di tutti i trasformatori.

In questa combinazione di componenti di base incide in modo molto rilevante ai fini del risultato la variabilità della composizione chimico-biologica della materia. Ideale, per ottenere un processo di caseificazione con la più elevata efficacia sarebbe poter disporre di una materia prima costante nei suoi componenti Questa condizione non si realizza neppure quanto la materia prima proviene da un'unica fonte (stalla) per la variabilità genetica all'interno della mandria. E' condizione normale nel panorama lattiero-caseario utilizzare per un unico lotto di caseificazione il latte proveniente da più stalle con valori ben diversi gli uni dagli altri. Ecco allora, l'ipotesi, alla base del presente progetto, di poter elaborare un **processo innovativo** che consenta di conoscere per ogni lotto di lavorazione il valore di ciascuna componente della materia prima, i parametri tecnologici di caseificazione e di conseguenza la loro ottimale combinazione per ottenere nonostante la loro variabilità un efficiente risultato del processo di caseificazione.

La sua originalità è legata alla tipologia di approccio che si intende utilizzare nel mettere in linea le informazioni delle materie prime con i processi tecnologici di produzione e, quindi, con i prodotti realizzati all'interno del caseificio sociale di Soligo.

Gli obiettivi che il progetto intende raggiungere sono di seguito individuati:

1. Conoscenza delle componenti il processo di trasformazione (gestionale-organizzativo)

Il proponente caseificio sociale di Soligo potrà disporre on-line e sistematicamente dei seguenti dati:

- parametri qualitativi di tutta la materia prima (latte) conferita dai produttori;
- caratterizzazione e separazione della materia prima in relazione alla destinazione produttiva: latte alimentare, formaggi freschi molli, formaggi a pasta filata, formaggi duri e semiduri;
- parametri qualitativi del siero, la resa di caseificazione in caldaia, i cali di maturazione, gli sfridi di lavorazione:
- modelli MIRS (Mid Infrared Spectroscopy) messi a punto e da applicare alla materia prima latte per la predizione della resa di caseificazione e delle caratteristiche qualitative del formaggio;

2. Conoscenze e competenze tecnico-scientifiche

Il proponente sociale di Soligo disporrà dei seguenti elementi:

- caratterizzazione qualitativa delle diverse tipologie di formaggio prodotte nel caseificio;
- relazioni quanti-qualitative fra materia prima in ingresso (latte di massa aziendale), latte in caldaia,
 siero, resa e qualità del formaggio;
- dati di valutazione dell'impatto delle caratteristiche di attitudine casearia e di qualità della materia prima in ingresso (latte di massa) sulla resa di caseificazione, sui cali di maturazione e sfridi di lavorazione, sulla qualità del siero e sulla qualità del formaggio commercializzato;
- calibrazioni MIRS per la predizione di nuovi aspetti qualitativi tecnologici del latte;
- il personale del proponente caseificio sociale di Soligo acquisirà conoscenze e competenze sufficienti per l'efficace gestione dei processi di produzione, raccolta della materia prima, di trasformazione casearia e di confezionamento dei prodotti finiti;
- il personale del caseificio sociale di Soligo disporrà di conoscenze e competenze in grado di ricercare, sperimentare e sviluppare nuovi prodotti a maggio valore aggiunto.

3. Aspetti economici:

Il proponente caseificio sociale di Soligo disporrà:

- di una clusterizzazione delle aziende conferenti la materia prima al caseificio in base alle caratteristiche qualitative del latte (aziende ad alta resa casearia); che consentirà di incrementare il prezzo della materia prima conferita dalle aziende produttrici;
- minori costi nella raccolta e gestioni delle informazioni (analisi) per i diversi prodotti e processi coinvolti per unità di produzione;
- un incremento di valore aggiunto nella trasformazione casearia per aumento dell'efficienza per lotto di prodotto a tutto beneficio dei produttori agricoli che potranno continuare nella loro attività assicurando al territorio la presenza della produzione zootecnica di latte.

FASI DEL PROGETTO

Fase 1: <u>Studio e individuazione della tipologia di informazioni determinabili e registrabili routinariamente</u> su supporto informatico per le diverse materie prime e processi presenti nella struttura di caseificazione.

Le informazioni sono state riferite ai seguenti prodotti:

- latte aziendale in entrata in caseificio,
- latte in caldaia,
- siero, formaggio,

e ai seguenti processi:

- · tecnologia di caseificazione,
- salatura,
- stagionatura.

Le analisi sul latte e siero sono state svolte utilizzando la strumentazione basata sulla tecnologia MIRS che permette, oltre alla determinazione della composizione centesimale del latte, anche lo stoccaggio delle informazioni riguardanti le assorbanze dello spettro MIRS. La registrazione degli spettri MIRS dei campioni analizzati, come dimostrato in letteratura (De Marchi et al., 2009, 2011), permette lo sviluppo di calibrazioni per la predizione di nuove caratteristiche qualitative della materia prima analizzata. L'infrastruttura permetterà lo stoccaggio di queste informazioni spettrali.

Figura 4: esempio di MilkoScan FT2 usato nel presente progetto.



L'analisi centesimale dei campioni di latte e il relativo spettro di assorbanza è stato determinato utilizzando un MilkoScan FT2 (Foss Electronic A/S, Hillerød, Danimarca) della fig. 4, acquistato dal caseificio Sociale di Soligo. Fondamentale, nello sviluppo di un modello di predizione, è la codifica univoca di ogni campione, che permetta di risalire al giorno di lavorazione del campione stesso e alla caldaia di lavorazione. Inoltre, tale codifica oltre che essere univoca ha il dovere di essere facilmente interpretabile da ogni membro del personale e deve essere di facile attribuzione al momento del campionamento. Una codifica non univoca e/o approssimativa dei campioni di latte porta a problemi di appaiamento nel momento in cui il dataset dei dati di riferimento va unito al dataset contenente gli spettri. Il vantaggio di questo macchinario è quello di permettere uno stoccaggio on-line delle informazioni spettrali. Di conseguenza, una codifica attenta di ogni campione permette di poter risalire al relativo spettro anche a distanza di parecchi mesi dal giorno di analisi.

Per tutte queste ragioni, la codifica adottata per identificare ogni singolo campione è stata la seguente:

130414PZ2A2L

Dove:

- Le prime 6 cifre indicano rispettivamente anno (13), mese (04) e giorno (14) di campionamento.
 Tale codifica della data in maniera "inversa" ha il vantaggio di essere automaticamente ordinabile in ordine crescente o decrescente anche usando un semplice dataset in formato elettronico (foglio Excel);
- Le 2 lettere successive alla data di campionamento indicano il tipo di produzione a cui il campione è stato destinato. Di conseguenza, PZ indicherà latte destinato alla mozzarella per pizzeria, CS indicherà latte destinato alla produzione di Casatella Trevigiana DOP, BC indicherà latte destinato alla produzione di Mozzarella STG, e infine CA indicherà latte destinato alla prodizione di caciotta;
- La cifra successiva (2) alla tipologia di produzione indica il numero di caldaia;
- La lettera successiva al numero di caldaia (A) va ad indicare se si tratta del primo (A), secondo (B), o terzo (C), campione di latte prelevato dalla medesima caldaia;
- La cifra successiva (2) sta ad indicare il giro di riempimento delle caldaie;
- L'ultima lettera, che può L o S, sta ad indicare se il campione prelevato si tratta di latte o siero.

Questa procedura di campionamento è stata quella che si è rivelata essere più immediata e facilmente comprensibile dal personale, e che ha inoltre permesso una codifica univoca dei campioni.

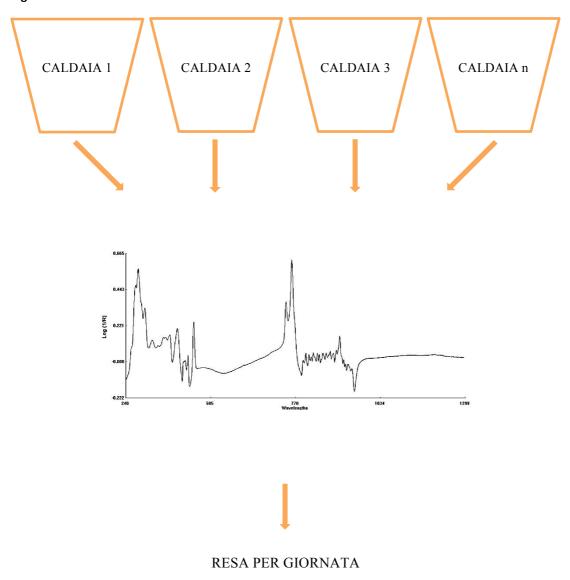
L'addestramento a tale tipo di codifica è stato quasi immediato e tutto il personale non ha dimostrato alcun tipo di problema nell'applicarla di routine nelle fasi di campionamento di latte in caldaia. La Mozzarella per pizzeria e la Casatella Trevigiana DOP sono state le 2 tipologie di formaggi maggiormente oggetto di studio in quanto rappresentano le 2 maggiori produzioni del caseificio di Soligo.

Di ogni campione di latte è stato quindi possibile individuare: la composizione centesimale, il relativo spettro e la resa di caseificazione per giornata di produzione. La determinazione della resa di caseificazione è stata espressa come kg di formaggio/kg di latte lavorato per ogni specifica giornata di produzione. Questa scelta è stata effettuata per vari motivi, primo fra tutti quello di non interferire con la normale routine lavorativa. Sarebbe stato, infatti, alquanto difficile, estrarre l'intera cagliata, il cui peso è nell'ordine di qualche quintale per caldaia, da ogni caldaia, trasportarla su una bilancia, pesarla, e poi riportarla in lavorazione. Ciò avrebbe inoltre comportato delle problematiche di natura igienico sanitaria. La cagliata, infatti, per il suo pH, temperatura, ed attività dell'acqua è una matrice estremamente suscettibile ad ogni tipo di contaminazione batterica. Il suo trasporto e la sua manipolazione sarebbero stati dei fattori di rischio troppo elevati per non essere tenuti in considerazione. Inoltre, ammesso che il volume delle caldaie fosse stato molto ridotto, e si fosse ottenuta una cagliata dal peso di qualche kilo, e ammesso inoltre un ridotto rischio di natura igienico sanitaria, la normale routine di lavorazione del personale del caseificio non prevede un peso delle cagliate. Se tale regola fosse stata introdotta, si sarebbe creato sicuramente un qualche disagio tra il personale, e si sarebbero allungati i tempi di lavorazione nonché confusione e disordine tra il personale stesso. Per questo motivo, la resa di caseificazione è stata rilevata come media per singola giornata di produzione al momento del confezionamento del formaggio.

In questa fase, quindi, è stato dato uno strumento semplice di codifica dei campioni al personale coinvolto nel progetto e si è andati, inoltre, a determinare il modo di ottenere informazioni oggetto del presente studio più efficace e meno laborioso possibile. In questo modo, inoltre, i risultati della ricerca saranno immediatamente trasferibili.

Fase 2: Acquisizione e archiviazione giornaliera delle informazioni (elencate nel paragrafo precedente) relative a tutte le matrici lavorate; le informazioni sui parametri qualitativi del formaggio interesseranno le due tipologie di prodotto maggiormente prodotte (90% dell'intera produzione del caseificio) nella struttura di caseificazione del caseificio sociale di Soligo.

Figura 5: Schematizzazione raccolta dati.



La presente fase si può riassumere utilizzando lo schema della figura 5. Si può dividere, infatti, in 3 sottofasi:

• Campionamento: Per ogni singola caldaia è stato prelevato un campione di latte e codificato in maniera univoca in modo da poter identificare il giorno di lavorazione e la caldaia di origine;

- Analisi qualità latte e raccolta degli spettri in laboratorio. Per ogni campione di latte di massa (prelevato all'inizio della caseificazione direttamente in caldaia) è stata effettuata l'analisi MIRS con successivo stoccaggio dello spettro. Essendo poi la resa espressa come dato medio per giornata di produzione, gli spettri raccolti per giornata di produzione di produzione sono stati mediati, in modo da mettere in relazione uno spettro medio con un dato medio;
- determinazione della resa. La resa di caseificazione è stata calcolata come quantità di formaggio prodotto per 100 litri di latte e questa rilevazione ottenuta come media per giornata di produzione al momento del confezionamento.

Raccolta dei campioni

Nel caseificio sono stati raccolti settimanalmente campioni di latte (50 mL), siero (50 mL) e prodotto finito (50 g) provenienti da varie caldaie per ciclo di lavorazione. Al momento del campionamento, ai campioni non è stato aggiunto alcun tipo di conservante poiché le analisi sono state svolte entro pochi minuti dalla raccolta dei campioni. La capacità di aver istituito una codifica semplice di ogni campione non ha interferito con la normale attività del personale che, inoltre, non ha visto la sua routine lavorativa venire intaccata.

Analisi di laboratorio

Le analisi di laboratorio del latte e del siero sono state effettuate con lo strumento Milkoscan FT2 (Foss Electronic A/S, Hillerød, Danimarca). Essendo conservati a temperatura di refrigerazione, prima di essere analizzati i campioni sono stati messi a bagnomaria per 20 minuti a 40 °C, per consentire la loro corretta omogeneizzazione ed evitare l'affioramento della frazione lipidica favorita dalle basse temperature e dal tempo. Per il latte i parametri forniti sono: grasso, proteine, caseina, lattosio, crioscopia, urea, RSM, Solidi, Acidità (°SH), densità, FFA, acido citrico. Per il siero, invece, sono state determinati i contenuti di grasso, proteine, lattosio e solidi.

Per le analisi sul prodotto solido, invece, è stato utilizzato il Foodscan Infratec 1255 food & feed (Foss Electronic A/S, Hillerød, Danimarca), il quale ha fornito le percentuali di umidità, grasso e proteine. Prima dell'analisi, come nel caso del latte e del siero, i campioni sono stati messi a bagnomaria, poi sono stati macinati e posti in piastra Petri per l'analisi.

Il Milkoscan FT2 permette lo stoccaggio in routine degli spettri, tramite le trasformate di Fourier. La visualizzazione degli spettri, previa conversione in formato .cal, è stata effettuata con software WINISI II ver. 1.50 (InfraSoft International, Port Matilda, PA). Come detto precedentemente, nel caso di più campioni nella stessa giornata nel caseificio 2, è stata fatta una media aritmetica degli spettri derivanti dai diversi campioni di latte raccolti.

Determinazione della resa

Nel caseificio di Soligo tale valore è stato calcolato il giorno del confezionamento. È un dato riferito alla media giornaliera, dividendo quindi la quantità di formaggio ottenuta sulla quantità di latte lavorato nella giornata di riferimento.

Acquisizione degli spettri e analisi dei dati

Una volta raccolti gli spettri, tramite il software WINISI è stata possibile la loro esportazione in un foglio elettronico Excel. I modelli di predizione sono stati ottenuti utilizzando il software The Unscrambler ver. X 10.1 (Camo A/S, Oslo, Norvegia). Gli spettri ottenuti sono mostrati nella Fig.6 (Casatella Trevigiana).

Figura 6: Plot degli spettri (pre-editing) del latte di massa destinato alla produzione di Casatella Trevigiana.

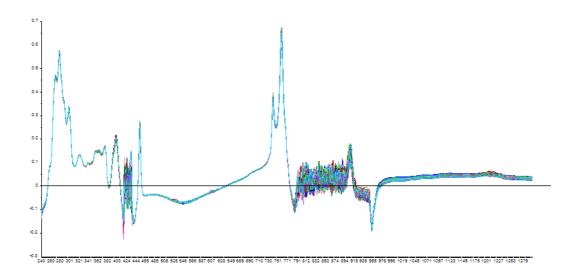
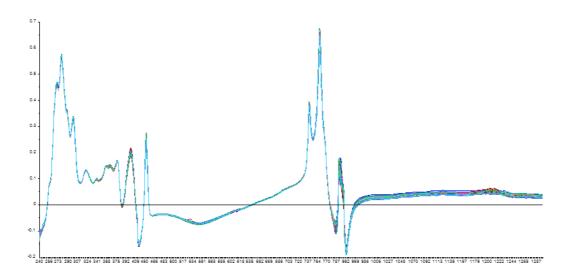


Figura 7: Plot degli spettri (post-editing) del latte di massa destinato alla produzione di Casatella Trevigiana.



Dopo aver visualizzato gli spettri è stata svolta un'analisi visiva volta alla determinazione delle regioni spettrali caratterizzate da un elevato rumore di fondo (zone di maggiore disturbo dell'acqua, in accordo con Heuer et al., (2001) e Fagan et al. (2009)). Le zone critiche evidenziate sono state quelle comprese tra 1597 e 1686 cm⁻¹, tra 2774 e 3484 cm⁻¹, tra 3530 e 3661 cm⁻¹ e quelle superiori a 3916 cm⁻¹. Gli spettri post editing sono visualizzabili nelle Fig.7 (Casatella Trevigiana).

Prima di procedere con l'analisi chemiometrica classica è stata svolta una analisi per componenti principali per individuare eventuali campioni outliers. L'analisi statistica per l'ottenimento dei modelli di predizione è stata condotta utilizzando la procedura PLS, il cui scopo è quello di individuare le regioni dello spettro che meglio spiegano la maggior parte della varianza del dataset; permette di ottenere, inoltre, un modello di regressione lineare di predizione elaborando i dati delle variabili osservate e predette. La PLS produce un set di variabili nuovo e più piccolo chiamate fattori. Una volta ottenuto il modello di predizione, è stata svolta una validazione dividendo il dataset iniziale in otto subset casuali e testando l'equazione di calibrazione sviluppata in n-1 subset sul sub non considerato.

L'analisi è stata condotta utilizzando differenti trattamenti matematici (derivata I e II) delle informazioni relative agli spettri MIRS. Tuttavia non sono stati osservati miglioramenti sostanziali nelle performance di predizione e per questo motivi sono stati utilizzati nell'analisi definitiva gli spettri MIRS grezzi (non trattati matematicamente).

Il numero ottimale di fattori è stato determinato come il numero di componenti principali dopo il quale l'errore standard di validazione (SECcv) non decresce in maniera significativa. Le performances dei modelli di calibrazione e validazione sono state verificate attraverso il SEC (errore standard in calibrazione), il coefficiente di determinazione di calibrazione (R²), il SECcv e il coefficiente di determinazione della validazione (1-VR). Valori di 1-VR compresi tra 0,50 e 0,65 indicano predizioni sufficienti, valori tra 0,66 e 0,81 indicano predizioni abbastanza accurate, mentre valori superiori a 0,82 indicano buone predizioni (Williams, 2003). Sono stati calcolati, inoltre, altri due parametri di valutazione dell'utilità pratica dei modelli di predizione, l'RPD e il RER. Il primo è il rapporto tra la deviazione standard e il SECcv del medesimo carattere, il secondo è il rapporto tra il range di dei dati di riferimento e il SECcv per il medesimo carattere. Valori di RPD superiori a 2 indicano buone predizioni (Sinnaeve et al., 1994); valori di RER inferiori a 3 indicano che il modello non dovrebbe essere applicato, se tali valori sono compresi tra 3 e 10 suggeriscono che il modello può essere usato come metodo di screening, mentre se sono superiori a 10, tale modello può essere utilizzato nei normali controlli di qualità (Williams, 2001).

Una volta effettuato il campionamento, e una volta letto il campione con il MilkoScan FT2 per determinare composizione centesimale del campione e relativo spettro, i due dataset, contenenti valore di riferimento (resa) e composizione centesimale e spettro, sono stati uniti per ID del campione. La codifica univoca ha

permesso di compiere questo processo con precisione e semplicità semplicemente usando un semplice foglio di calcolo excel. In fig. 8 è rappresentato un esempio di tale dataset.

Figura 8: esempio di dataset in foglio di formato elettronico Excel contenente codice identificativo del campione (ID), composizione centesimale del rispettivo campione, codice identificativo del siero di lavorazione, resa (giornaliera), spettro di assorbanza del rispettivo campione di latte, spettro di assorbanza del relativo campione di siero.

ID (Latte)	Composizione centesimale (latte) ID (Siero)	Composizione centesimale (siero)	RESA	240	241	1299	240	241	1299
130415PZ1A2L	130415PZ1A	28	10.98	-0.1010034	-0.0918192	0.0220687	-0.0215204	-0.027319	0.0007501
130415PZ3A2L	130415PZ3A	28	10.98	-0.112168	-0.0987147	0.0228984	-0.0304739	-0.0311701	0.0006289
130416PZ1A2L	130416PZ1A	28	11.88	-0.1032602	-0.0980457	0.0243228	-0.0419176	-0.0243758	0,0000146

Nella Fig. 8, l'ID rappresenta la codifica univoca di ogni singolo campione descritta nel paragrafo precedente. La composizione del latte include parametri come: proteine %, grasso %, lattosio %, caseina %, urea ‰, residuo secco magro %, solidi totali %, acidità (°SH/100 mL), densità g/mL, acidi grassi liberi, acido citrico e punto crioscopico. La composizione del siero, invece, include parametri come: grasso %, proteine %, lattosio % e solidi totali %. Gli spettri includo un valore di assorbanza per ogni numero intero compreso tra 240 e 1299 (PIN) sia degli spettri relativi a campioni di latte sia di spettri relativi a campioni di siero.

Come detto precedentemente, i dati di riferimento della resa sono stati forniti come dati medi di resa per giornata di produzione. Di produzione è stata fatta una media degli spettri per giornata di produzione, in modo da poter sviluppare un modello di predizione MIRS di resa media giornaliera utilizzando una media degli spettri giornaliera. Il dataset su cui sono stati sviluppati i modelli di predizione, di conseguenza, è stato un dataset del seguente tipo (Fig. 9).

Figura 9: Esempio di dataset in foglio di formato elettronico Excel contenente codice identificativo del campione (ID), composizione centesimale del rispettivo campione, codice identificativo del siero di lavorazione, resa (giornaliera), spettro di assorbanza medio per giornata di produzione (latte), spettro di assorbanza medio per giornata di produzione (siero).

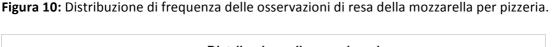
COMPOSIZIONE LATTE	COMPOSIZIONE SIERO	RESA	LATTE (SPETTRO)				IERO (SPETTRO)			
ID			240.00000	241.00000	1299.00000	240.00000	241.00000 .		1299.00000	
121107PZ		12.52	-0.0966756	-0.0981822	0.0294744	-0.0257612	-0.0243424 .		0.002147	
121108PZ		12.55	-0.1016195	-0.1006593	0.0310638	-0.0227985	-0.0223712		0.0024326	
121113PZ		12.54	-0.1032952	-0.0966445	0.0293843	-0.0273447	-0.0178714 .		0.0010022	
121115PZ		12.79	-0.1020483	-0.0937627	0.0288276	-0.0244816	-0.0193092 .		0.0011706	
121116PZ		12.69	-0.1117348	-0.0994345	0.0296269	-0.0332109	-0.0271327		0.0028998	
121119PZ		12.14	-0.0981447	-0.0978668	0.0277934	-0.0207292	-0.0212316		0.0010361	
121120PZ		12.39	-0.0953206	-0.098467	0.0265715	-0.019427	-0.024326		8.033E-05	
121122PZ		12.84	-0.1057022	-0.1013634	0.0290151	-0.0297471	-0.0232855		0.0017577	
121123PZ		12.48	-0.1100476	-0.1017563	0.0246965	-0.0237075	-0.0240727		0.0008583	
121126PZ		12	-0.0994267	-0.1000036	0.0290204	-0.0232258	-0.0242861		0.0004526	
121127PZ		12.2	-0.0961083	-0.0943853	0.0277308	-0.0262403	-0.0245309 .		0.0005656	
121129PZ		12.58	-0.1004785	-0.0974475	0.0272463	-0.0197978	-0.0249481		-0.0004805	
121130PZ		12.53	-0.1043268	-0.0981592	0.0271558	-0.022207	-0.0257932 .		0.0040112	

Fase 3: Analisi dati.

In questa fase sono stati analizzati i dati relativi a rese di caseificazione e spettri di assorbimento con l'obiettivo di ottenere un modello statistico di predizione MIRS che metta in relazione dato misurato (resa giornaliera) con rispettivo spettro di assorbimento. Tale modello di predizione permetterà di ottenere dei valori di resa casearia per giornata di produzione predetta che verranno messi in relazione, tramite modelli statistici di regressione lineare, con i rispettivi dati di resa casearia per giornata di produzione. Tali modelli di regressione lineare permetteranno di stimare la bontà del modello di predizione MIRS. Nella pratica, permetteranno di stimare la varianza dei dati misurati (resa) spiegata dal modello MIRS, l'errore di predizione, e la capacità di andare a stimare dei valori di resa predetti solamente conoscendo il rispettivo spettro di assorbanza di un campione di latte. Fondamentale, per lo sviluppo di un efficace modello di predizione MIRS, è la massimizzazione della variabilità dei dati di riferimento, in modo da essere rappresentativa della variabilità della realtà produttiva del caseificio. La massimizzazione della variabilità si ottiene tramite un campionamento mirato ad includere tutti i fattori che possono andare a determinare direttamente la resa. Per questi motivi, la prova si è svolta in un arco temporale medio-lungo.

Distribuzione dei dati e statistiche descrittive

La distribuzione di frequenza dei dati di resa è rappresentata nella Fig.10 (Mozzarella per pizzeria) e nella Fig.11 (Casatella Trevigiana).



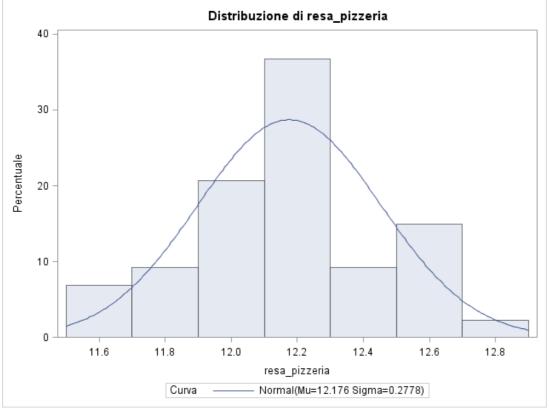
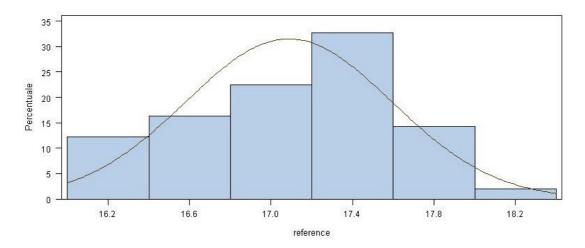


Figura 11: Distribuzione di frequenza delle osservazioni di resa della Casatella Trevigiana; reference = resa, %.



Utilizzando la procedura del software statistico SAS 9.2, 2008 (SAS Institute Inc., Cary, NC) è stata verificata e confermata la normalità della distribuzione dei dati, attraverso il test di Shapiro-Wilk. I valori ottenuti, infatti, sono stati per la mozzarella per pizzeria 0,96, mentre per la Casatella 0,97, considerando che valori pari o superiori a 0,95 indicano una distibuzione normale dei dati.

Tabella 2: statistiche descrittive delle rese di Grana Padano e Casatella Trevigiana.

Carattere	Media, %	d.s., %	CV	Min, %	Max, %	Range, %
% Resa, Mozzarella pizzeria	12,16	0,27	2,28%	11,54	12,84	1,30
% Resa, Casatella Trevigiana	17,09	0,50	2,93%	16,19	18,38	2,19

In Tab. 2 sono sintetizzate le statistiche descrittive dei dati di resa. Le medie di resa della mozzarella pizzeria e della Casatella Trevigiana sono rispettivamente di 12,16% e di 17,09% e variano da un minimo di 11,54% ad un massimo di 12,84% per la mozzarella pizzeria, e da un minimo di 16,19% ad un massimo di 18,38% per la Casatella Trevigiana. Il *range*, quindi, risulta essere più elevato per la Casatella Trevigiana e questo potrebbe essere spiegato dal fatto che la composizione iniziale del latte utilizzato per la produzione della Casatella presenta una maggiore variabilità rispetto al latte utilizzato per la mozzarella pizzeria, questo anche in relazione al processo di standardizzazione che tale latte subisce prima della caseificazione.

Tabella 7: Statistiche descrittive della composizione del latte in caldaia destinato alla produzione di Mozzarella pizzeria e Casatella Trevigiana.

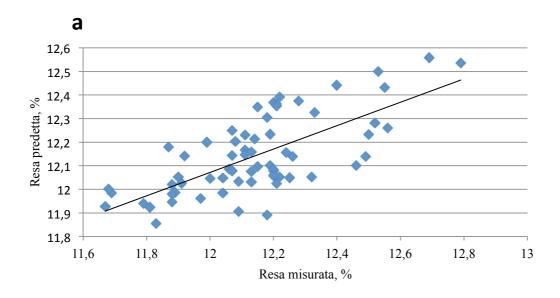
Formaggio						
Carattere	Media, %	d.s., %	CV	Min, %	Max, %	Range, %
Mozzarella Pizzeria						
Grasso, %	3,06	0,08	2%	2,90	3,24	0,34
Proteine, %	3,59	0,04	1%	3,52	3,70	0,18
Caseina, %	2,76	0,04	1%	2,68	2,89	0,21
Casatella Trevigiana						
Grasso, %	3,96	0,10	3%	3,60	4,23	0,63
Proteine, %	3,44	0,07	2%	3,30	3,61	0,31
Caseina, %	2,67	0,06	2%	2,51	2,83	0,32

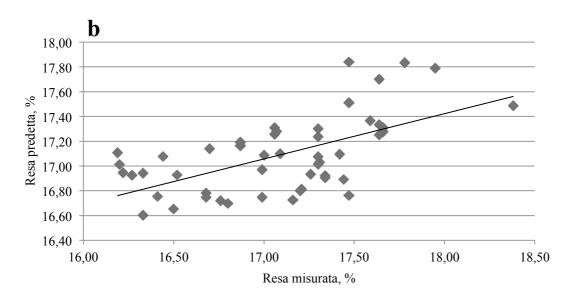
Differenze tra medie suggeriscono che le curve di calibrazione MIRS dovranno essere necessariamente specifiche per singola tipologia di formaggio. Tuttavia, per formaggi che presentano tecnologie di produzioni simili, come il Grana Padano, Parmigiano Reggiano e il Trentingrana, non oggetto comunque del presente progetto, è verosimile che si possano utilizzare i medesimi modelli di predizione, ma in questo senso saranno necessari altri studi, non essendo presenti in bibliografia lavori sulla predizione della resa tramite spettroscopia MIRS.

Spettri MIR e analisi PLS

I modelli di predizione sono stati ottenuti modificando gli spettri, con l'eliminazione delle zone di rumore di fondo, descritto precedentemente. Tale procedura è stata utilizzata anche in altri lavori in bibliografia, sulla predizione delle MCP (Dal Zotto *et al.*, 2008; De Marchi *et al.*, 2009a) e degli acidi grassi (De Marchi *et al.*, 2011). Gli spettri mostrano dei picchi specifici in corrispondenza delle zone di assorbimento delle proteine, comprese tra 1.550 e 1.570 cm⁻¹ (Etzion *et al.*, 2004), delle zone di assorbimento dei lipidi, comprese tra 2.800 e 3.000 cm⁻¹ (Lefèvre e Subirade, 2000), e delle zone di assorbimento dei legami C-H (1.493 e 1.080-1.157 cm⁻¹) (De Marchi *et al.*, 2009a).

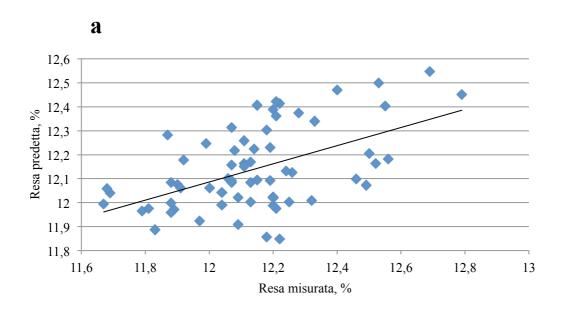
Figura 12: Plot dei modelli di predizione ottenuti in calibrazione (tra resa misurata e predetta) per la mozzarella pizzeria (a) e per la Casatella Trevigiana (b).





La metodologia statistica della PLS ha poi permesso di ottenere i modelli di predizione. I grafici relativi alla fase di calibrazione sono mostrati nella Fig.12, mentre quelli di validazione sono presentati nella Fig.13. L'obiettivo della calibrazione è quello di ottenere un'equazione che metta in relazione il dato analitico (resa misurata) con lo spettro MIRS; quello della validazione, invece, è di verificare quanto sia efficace l'equazione di calibrazione sviluppata in precedenza (Romìa e Bernardez, 2009). Per quanto riguarda la mozzarella pizzeria, si osserva graficamente una certa linearità dei dati sia in calibrazione sia in validazione, al contrario di quanto accade per il modello di predizione della resa in Casatella Trevigiana.

Figura 13: Plot dei modelli di predizione ottenuti in validazione (tra resa misurata e predetta) per la mozzarella pizzeria (a) e per la Casatella Trevigiana (b).



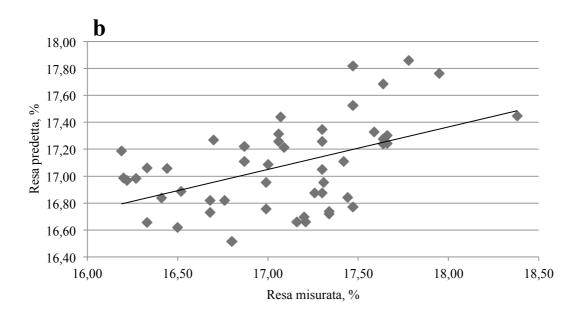


Tabella 8: statistiche di *goodness-of-fit* delle rese di mozzarella pizzeria e Casatella Trevigiana.

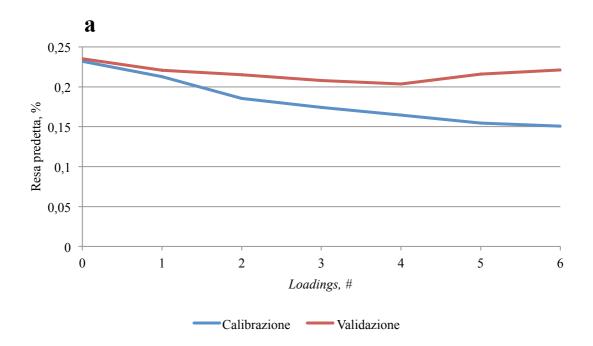
Carattere	# L	SEC	R ²	SEC _{cv}	1-VR	RPD	RER
% Resa, Mozzarella pizzeria	4	0,18	0,49	0,21	0,23	1,31	6,29
% Resa, Casatella Trevigiana	3	0,40	0,38	0,44	0,26	1,13	4,96

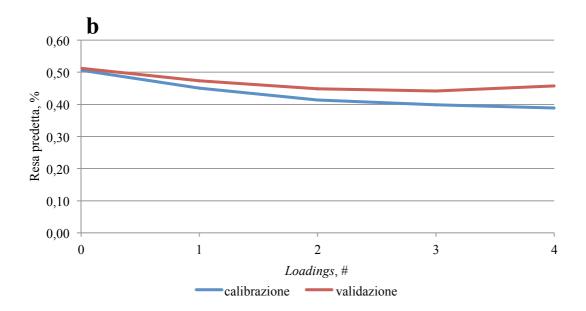
In Tab.8 sono visibili le statistiche di *goodness-of-fit* di tali modelli. Il numero di fattori scelto per i modelli di predizione variano da 4, per la mozzarella pizzeria, a 3 per la Casatella Trevigiana. Questi valori sono stati identificati in base a quanto rappresentato nella Fig. 14, ossia individuando il fattore oltre il quale l'RMSE non decresce in maniera sostanziale. In accordo con Romìa e Bernardez (2009) la formula per la sua determinazione è la seguente:

$$RMSE = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^{n} (\hat{y}_i - y_i)^2}{n}}$$

Rappresenta perciò la radice quadrata della media della sommatoria della differenza tra i valori predetti ed osservati elevati al quadrato. Indica, in media, di quanto i valori predetti si differenziano da quelli osservati. Questo criterio è stato seguito anche in un recente lavoro sulla predizione tramite spettroscopia MIRS di latti coagulanti e non coagulanti di De Marchi *et al.* (2013). In accordo con Monteleone (2008) e Romìa e Bernardez (2009) la scelta del numero ottimale di fattori si può anche effettuare con l'interpretazione dei grafici della varianza spiegata in fase di calibrazione e validazione dai modelli sperimentali. Quando l'andamento della varianza spiegata in fase di validazione si allontana progressivamente dalla varianza spiegata in fase di calibrazione, e di conseguenza la varianza residua aumenta, il modello inizia a perdere di affidabilità. In questo caso, per la mozzarella pizzeria, in calibrazione i primi quattro fattori spiegano da soli il 49% dalla varianza totale. Tuttavia, in validazione, dal 5° fattore in poi, la varianza spiegata inizia a decrescere e quindi il modello, a partire da tale fattore, perde la sua affidabilità. La varianza spiegata è sintetizzata nelle Fig.15.

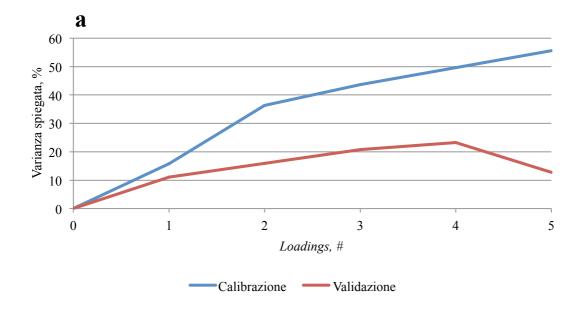
Figura 14: RMSE dei modelli di predizione per la mozzarella pizzeria (a) e per la Casatella Trevigiana (b).

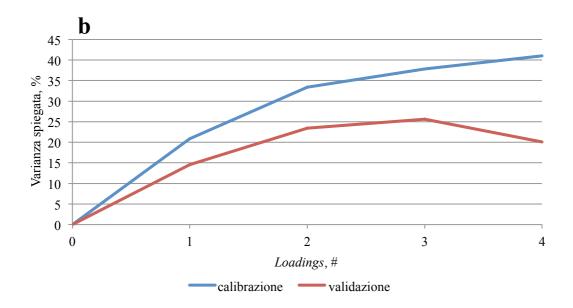




Per la Casatella Trevigiana la situazione è invece differente, poiché la varianza spiegata in calibrazione già a partire dal 4° fattore la varianza in validazione inizia a diminuire. La varianza residua è inoltre elevata anche già fermandosi al 3° fattore, essendo del 12%, fatto ancora più pronunciato con la mozzarella pizzeria al 4° fattore (26%). Anche considerando l'RMSE, si può osservare che, in validazione, inizia ad aumentare a partire dal 5° fattore (Mozzarella pizzeria) e dal 4° fattore (Casatella Trevigiana).

Figura 15: % di varianza spiegata in fase di calibrazione e validazione dei modelli di predizione della resa in Mozzarella pizzeria (a) e Casatella Trevigiana (b).





Il modello più accurato è quello ottenuto per la mozzarella pizzeria con un R² di 0,49. Tuttavia gli altri indicatori quali 1-VR, RPD e RER non soddisfano pienamente i criteri di bontà del modello di predizione, ma comunque non lo descrivono in maniera negativa. Il primo, infatti, è di 0,23 (tra 0,50 e 0,65 le predizioni sono dette sufficienti); il secondo è 1,53 (dovrebbe essere superiore a 2); il terzo è di 6,29 e indica che il modello può però essere utilizzato come metodo di *screening*.

Il modello per la Casatella Trevigiana non ha dato risultati simili al modello per la mozzarella pizzeria e anche per questo modello il RER suggerisce che può essere usato come modello di screening.

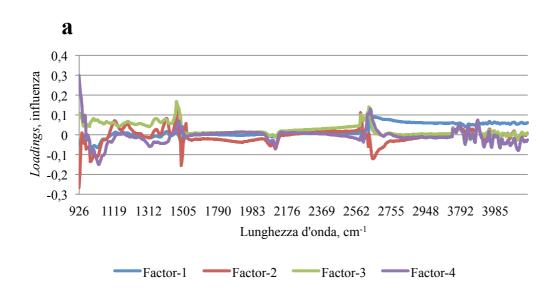
La letteratura, in materia di predizione tramite spettroscopia MIRS di caratteri di qualità del latte, risulta essere molto vasta, anche se sono assenti lavori sulla predizione della resa. Per quanto riguarda il profilo acidico, per gli acidi grassi saturi sono stati raggiunti coefficienti di determinazione prossimi (acidi grassi a media e lunga catena) o superiori (acidi grassi a corta catena) a 0,90 da Soyeurt et~al.~(2011). Per gli acidi grassi insaturi, i risultati migliori sono stati ottenuti nel medesimo studio, raggiungendo un R^2 di 0,95 per il C18:1 et cis-9, anche se per quelli più importanti da un punto di vista nutrizionale come l'acido linoleico e linolenico (Bauman et~al.~(2006)) i coefficienti di determinazione risultano essere inferiori (rispettivamente 0,71 e 0,60). Bonfatti et~al.~(2011) hanno invece sviluppato dei modelli di predizione delle diverse frazioni proteiche del latte; tuttavia i modelli di predizione non hanno mostrato elevate accuratezze mostrando dei coefficienti di determinazioni non ottimali, essendo di 0,66 per l' α_{s-1} caseina, di 0,49 per l' α_{s-2} caseina, di 0,53 per la β caseina, di 0,63 per la β caseina e di 0,40 per la γ caseina. A riguardo dell'utilizzo del MIRS per la predizione delle MCP, De Marchi et~al.~(2013) hanno raggiunto R^2 di 0,82 per l'RCT, di 0,80 per il k_{20} e di 0,87 per l' α_{30} .

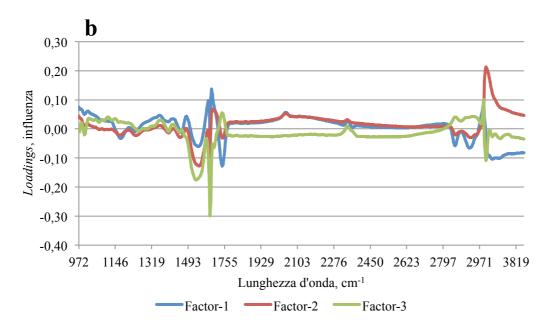
Per quanto riguarda le basi biochimiche che possono influenzare la resa, è importante l'analisi dei *loadings* dei modelli di predizione (Fig.16). I picchi principali sono quelli osservati a livello delle zone di assorbimento delle proteine intorno a 1550 cm⁻¹ e nelle zone di assorbimento del grasso tra 2800 e 3000 cm⁻¹. Questo è in accordo con altri studi sull'influenza della composizione del latte, in cui appunto viene dimostrata l'elevata influenza della quantità di proteine e grasso sulla resa (Barbano e Sherbon, 1984; Verdier-Metz *et al.*, 2001; Malacarne *et al.*, 2006; Banks, 2007). Aumentando la numerosità delle osservazioni e

massimizzando la variabilità della resa casearia, è comunque attendibile che la varianza spiegata dal modello della predizione in resa per entrambe le tipologie di formaggio possa aumentare.

La spettroscopia MIRS ha quindi dimostrato la capacità di predire la resa di caseificazione con dati ottenuti in condizione operative. Delle soluzioni per poter ottenere dei modelli di predizione MIRS della resa più accurati potrebbero prevedere da un lato l'aumento della numerosità del dataset e dall'altro l'individuazione di strategie che permettano di creare un legame più stretto fra spettro MIRS e resa di una determinata quantità di latte. Ciò potrebbe essere possibile o attraverso una modifica del processo produttivo, introducendo una modalità di determinazione della resa di caseificazione per caldaia e non più per giornata produttiva, oppure attraverso lo sviluppo della medesima tecnologia produttiva in minicaldaie che permettano di svolgere caseificazioni con minori quantità di latte.

Figura 16: influenza delle componenti principali sui modelli di predizione per Mozzarella pizzeria (a) e Casatella Trevigiana (b).





CONCLUSIONI

La resa di caseificazione è il parametro qualitativo del latte più importante per l'industria casearia; tuttavia, al momento, l'industria è caratterizzata da una mancanza di strumentazioni efficaci per il suo monitoraggio, soprattutto in larga scala e a costi marginali ridotti. Il presente lavoro ha dimostrato che la tecnica MIRS è in grado di poter predire a priori (prima del processo di caseificazione) la potenzialità di ogni singolo campione di latte ad essere trasformato in formaggio con una moderata accuratezza. Inoltre, il monitoraggio on-line su larga scala della resa casearia potrà permettere in futuro di: i) investigare sui fattori manageriali alla stalla (ad esempio, dieta) in grado influenzare le bovine da latte alla produzione di un latte più adatto ad essere lavorato; ii) integrare gli attuali sistemi pagamento latte a qualità introducendo, tra i fattori che vanno a determinare il prezzo finale alla stalla del latte, la resa casearia. Questo punto rispecchia quanto la realtà casearia veneta si sta accingendo ad iniziare tramite l'introduzione dello IAC (indice di attitudine casearia) all'interno del sistemi di pagamento del latte. Inoltre, la tecnica MIRS potrà permettere la raccolta di informazioni fenotipiche del latte di bovine sulla resa casearia a larga scala e a costi marginali ridotti, e questo potrà aprire la strada a futuri programmi di miglioramento genetico del bestiame da latte anche introducendo la resa casearia come parametro di valutazione genetica dei tori. Infine, il presente progetto ha dato l'input necessario all'industria casearia per poter discriminare con maggior precisione il latte all'ingresso, e per potenzialmente dividere il latte più adatto alla trasformazione casearia (latte con maggior resa predetta) dal latte più adatto, invece, al consumo diretto (latte con minore resa predetta). Infine, a causa delle diversificate tecnologie di produzione casearia tipiche della realtà italiana, per ogni tipologie di formaggio sarà necessario sviluppare delle curve di predizione MIRS della resa casearia ad hoc.