

Maiorchino cheese: physico-chemical, hygienic and safety characteristics

Francesca Conte,¹ Andrea Ravidà,²
Alessandro Mandanici,³
Vincenzo Ferrantelli,⁴ Michele Chetta,⁴
Antonella Verzera⁵

¹Dipartimento di Scienze Veterinarie, Università di Messina; ²Azienda Sanitaria Provinciale 5, Messina; ³Medico Veterinario, Messina; ⁴Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Sicilia A. Mirri, Palermo; ⁵Dipartimento di Scienze Chimiche, Università di Messina, Italy

Abstract

This study assessed the physical, chemical, and microbiological characteristics of traditional *Maiorchino* cheese (Italy) made from raw ewe's milk or from a mixture with goat's milk. Cheese samples from the same batch were analyzed after 20 days and 6, 8, 12, 17 and 24 months of ripening. A decrease in moisture level lead to progressive total solids concentration (fat, total nitrogen, total solids and chloride) during ripening. A_w values decreased from 0.97 (day 20) to 0.85 (month 24), while pH increased from 4.99 to 5.41 (6 months) followed a by reduction until 4.85 (month 24). In samples analysed 20 days after cheesemaking, aerobic mesophilic count was $1.8 \cdot 10^7$ CFU/g, Enterobacteriaceae were $2.7 \cdot 10^6$ CFU/g, *Staphylococcus* spp. were $1.8 \cdot 10^4$ CFU/g, and yeasts $4.5 \cdot 10^5$ CFU/g. Sulphite reducing bacteria were not found. Lactic bacteria count at 30°C (LAB30) and 42°C (LAB42) was about 10^8 CFU/g (day 20); LAB30 reduced until month 8; LAB 42 reduced until month 12; both were not detectable at months 17 and 24. Cheese-making process does not consider commercial starter cultures and LAB group is heterogeneous because of its natural microflora. Yeasts were considered as typical microflora of *Maiorchino*. Volatile compounds were examined at 6, 12 and 24 months of ripening; 54 components were identified. Statistical analysis showed that the seasoning period of 12 months was the best for *Maiorchino* flavour attributes. The characterisation of *Maiorchino* traditional cheese may be considered as significant for this old traditional product, with the aim of obtaining the PDO certification.

Introduzione

Il *Maiorchino* è un formaggio tipico di alcune zone della Sicilia, che ha origini antiche e la cui area di produzione è rappresentata da diversi comuni ricadenti nelle fasce collinari e montane dei monti Peloritani e dei monti Nebrodi. È inserito tra i prodotti agroalimentari tradizionali; il formaggio prodotto presso Novara di Sicilia (Messina) ha ottenuto lo stesso riconoscimento come *Maiorchino* di Novara di Sicilia (Repubblica Italiana, 2014). Pertanto, la produzione del *Maiorchino* e del *Maiorchino* di Novara di Sicilia fruisce delle deroghe parziali o totali, definite dalle vigenti disposizioni normative nazionali e comunitarie. La produzione, secondo gli usi tradizionali legati alle condizioni ambientali, acquisisce rilevanza, per quantità e qualità, durante l'intervallo temporale marzo-maggio. In tale periodo gli animali attingono da pascoli contenenti specie vegetali spontanee (tra cui trifoglio) ed essenze legnose, che dovrebbero essere considerate determinanti per il conferimento dell'aroma tipico del prodotto (Conte e Panebianco, 2001). La lavorazione del *Maiorchino* è caratterizzata da: rottura del coagulo fino alle dimensioni di un chicco di riso; cottura della cagliata in caldaia sotto siero a circa 60°C, con agitazione continua che consente l'ulteriore riduzione delle dimensioni dei granuli fino ad un seme di miglio; lavorazione manuale sotto siero, con l'ottenimento di una massa sferica; uso di una particolare fascera in legno (detta *garbua* o *garbula*) all'interno della quale la *tuma* è introdotta in scotta calda; superficie del formaggio levigata. Tale tecnologia presenta alcune differenze rispetto a quella realizzata nello stesso territorio per la produzione di formaggi come il Pecorino Siciliano.

Tradizionalmente, il *Maiorchino* è ottenuto da latte ovino crudo (circa 80%), talora miscelato a latte di caprino e/o bovino, con l'aggiunta di caglio in pasta, di agnello e/o capretto, prodotto in modo artigianale.

A 2 giorni dall'estrazione dalla fascera, le forme vengono salate a secco con sale marino a granulometria grossa; la salatura varia da 20 a 30 giorni. Durante i primi 2 mesi il formaggio è pulito, strofinato e rivoltato; dal 3° mese viene trattato con olio di oliva. Negli ambienti di stagionatura, locali tradizionali sotterranei dai muri spessi (definiti *ntirradi*), condizioni di temperatura, umidità e ventosità naturali costanti costituiscono l'ambiente ideale per la stagionatura, in quanto derivano dalle fasce collinari e montane dei luoghi di produzione e/o stagionatura.

Quest'ultima può avere una durata di 4 mesi o superiore a 6 mesi, sebbene possa essere protratta fino a 12 e 24 mesi. Un formaggio di buona qualità si ottiene dopo circa 8 mesi di

Correspondence: Francesca Conte, Dipartimento di Scienze Veterinarie, Università di Messina, Polo Universitario dell'Annunziata, viale Annunziata, 98168, Messina, Italy.
Tel. +39.090.3503767 - Fax: +39.090.3503942.
E-mail: fconte@unime.it

Key words: *Maiorchino* cheese, Cheese specificity, Food quality.

Conflict of interests: the authors declare no potential conflict of interests.

Received for publication: 9 July 2014.

Revision received: 4 November 2014.

Accepted for publication: 4 November 2014.

This work is licensed under a Creative Commons Attribution 3.0 License (by-nc 3.0).

©Copyright F. Conte et al., 2015

Licensee PAGEPress, Italy

Italian Journal of Food Safety 2015; 4:4532

doi:10.4081/ijfs.2015.4532

stagionatura; in tal caso, esso ha crosta di colore giallo ambrato che tende al marrone con il progredire della stagionatura, in conseguenza del trattamento delle forme con olio di oliva. La pasta è di colore giallo paglierino caratteristico ed ha consistenza compatta; il sapore è delicato, tendente al piccante se la stagionatura è prolungata. Il prodotto ha un peso di circa 10-12 kg, con uno scaldo di 12 cm, ed un diametro di 35 cm (Conte e Panebianco, 2001).

Il riconoscimento ufficiale del prodotto, quale formaggio a Denominazione di Origine Protetta (DOP), rappresenta, da tempo l'obiettivo principale per il *Maiorchino*. Il raggiungimento di tale traguardo necessiterebbe di un supporto tecnico-scientifico, mirato a definire il profilo qualitativo del formaggio. Per tale ragione, vista la carenza di documentazioni scientifiche in merito, con il presente lavoro si è inteso riportare i risultati degli studi sulla composizione essenziale del *Maiorchino*, nonché su alcuni indici fisico-chimici, microbiologici e sulla componente volatile aromatica di campioni con diverso grado di stagionatura, al fine di proporre un'esauriente caratterizzazione.

Materiali e Metodi

Sono stati esaminati campioni di *Maiorchino*, prelevati dalle rispettive forme, presso un magazzino di stagionatura, sito a breve distanza dal caseificio nel quale esso è prodotto (Novara di Sicilia, Messina). I formaggi erano ottenuti da latte ovino, misto a latte caprino (circa 20%) e facevano capo allo stesso lotto. Sono stati campionati formaggi stagionati per 20 giorni (campione n. 1), 6

mesi (campione n. 2), 8 mesi (campione n. 3), 12 mesi (campione n. 4), 17 mesi (campione n. 5) e 24 mesi (campione n. 6); dalle sei forme era prelevata una unità campionaria del peso di circa 500 g. I campioni, immessi singolarmente in sacchetti sterili, sono stati trasportati in laboratorio in contenitori refrigerati. Dalla porzione interna delle singole aliquote è stata prelevata sterilmente una quota adeguata per le determinazioni analitiche; ciascuna quota è stata sminuzzata con idoneo strumentario sterile. Si è proceduto alla valutazione di: pH (metodo potenziometrico, pHmetro; Hanna Instruments, Woonsocket, RI, USA), previa omogeneizzazione di 10 g di ciascun campione con 90 mL di acqua distillata; a_w (sistema AquaLab; Decagon Devices Inc., Pullman, WA, USA); cloruri (NaCl %) (AOAC, 2000); umidità (%) (APHA, 1992); solidi totali (APHA, 2001); azoto totale (Barbano *et al.*, 1990); grasso (%) (metodo Gerber, FIL-IDF, 1997). Per i formaggi stagionati per 6, 12 e 24 mesi è stata valutata la frazione volatile aromatica mediante microestrazione in fase solida associata a cromatografia in fase gassosa-spettrometria di massa (*solid phase micro extraction gas chromatography-mass spectrometry*; SPME/GC-MS). In particolare, per la procedura SPME, l'estrazione della frazione volatile è stata effettuata con una fibra divinylbenzene/carboxen/polydimethylsiloxane (DVB/Carboxen/PDMS) dello spessore di 50/30 μ m (Supelco, Bellefonte, PA, USA). Ciascun campione di formaggio grattugiato finemente (6 g) era sospeso in 12 mL di soluzione salina satura in un vial da 40 mL, munita di valvola *mininert* (Supelco). L'estrazione è avvenuta nello spazio di testa *del vial* a 60°C; il campione era equilibrato per 30', con tempo di estrazione di 40'. Durante l'estrazione il vial era mantenuto in bagnomaria, con simultanea agitazione. La fibra è stata, quindi, inserita nell'iniettore GC/MS. Per il

desorbimento termico degli analiti la fibra è stata tenuta a 260°C per 3' all'interno dell'iniettore *splitless* del gascromatografo. È stata quindi condotta l'analisi qualitativa e quantitativa in GC/MS (gascromatografo Varian 3800 interfacciato con uno spettrometro di massa Varian SATURN 2000, equipaggiato con una colonna capillare in silice fusa CP-Wax, 60 m 0,25 mm i.d. e con spessore del film di 0,25 μ m). Gli indici di ritenzione lineare, in condizioni di temperatura programmata, sono stati calcolati applicando l'equazione di Van den Dool e Kratz (1963).

È stata effettuata, altresì, la valutazione microbiologica quantitativa che, per il campione n. 1, riguardava: flora batterica mesofila aerobia totale (Oxoid, Basingstoke, UK), enterobatteri totali in VRBGA (Oxoid); *Staphylococcus aureus* presuntivo in Baird Parker Agar (Oxoid) (APHA, 2001). Inoltre, per tutti i campioni, sono stati quantificati i batteri lattici mesofili (*Lactic acid bacteria* 30; LAB 30) e termofili (LAB 42) in MRS agar (Oxoid), con incubazione in aerobiosi, rispettivamente a 30 e 42°C, per 24-48 ore; muffe e lieviti in Oxytetracycline Glucose Yeast Extract Agar (Oxoid) con incubazione a 25°C per 5-7 giorni; anaerobi solfito-riduttori: preparazione dell'omogenato e delle diluizioni seriali con brodo Reinforced Clostridial Medium (Oxoid), semina in Sulfite Polymyxin Sulfadiazine agar (Oxoid) ed incubazione in anaerobiosi a 37°C per 48 ore.

L'analisi statistica dei dati ottenuti è stata condotta mediante Statgraphic plus (versione 5.1). ANOVA, Duncan test e analisi dei componenti principali (*principal component analysis*; PCA) sono stati applicati ai dati ottenuti per determinare l'eventuale correlazione tra i composti volatili del formaggio e i diversi periodi di stagionatura (modello statisticamente significativo con $P < 0.05$).

Risultati e Discussione

Gli indici chimico-fisici e batteriologici dei campioni sono riportati in Tabella 1. Per le sue peculiarità il *Maiorchino* non può essere accostato semplicemente ad un formaggio ovino stagionato. Difatti, l'osservazione dei risultati ha consentito di dedurre quanto segue: il valore di pH, pari a 4,99 nel formaggio n. 1, era connesso all'attività della flora microbica acidificante. Nel prodotto semi-stagionato e stagionato (n. 2 e 3), valori più elevati sarebbero riconducibili all'attività proteolitica endogena; nel *Maiorchino* stagionato per 17 e 24 mesi si è notata una diminuzione del pH. Riguardo tale parametro, al pari dei restanti indici fisico-chimici, è stato possibile fare solo un raffronto parziale con altri formaggi; ad esempio, per il Pecorino Romano fresco è documentato un pH di 5.3-5.7 (Vizzardi e Maffei, 1990) in formaggi stagionati per 8-12 mesi. Inoltre, il pH dei campioni esaminati si attestava al di sotto degli indici riportati per il Pecorino Romano *sperimentale* stagionato per 10 mesi (5.7-5.9) (Salvadori Del Prato, 1998). I valori di a_w si riducevano per lo più gradatamente con il progredire della stagionatura; ciò costituisce un'usuale modificazione dei formaggi in fase di maturazione, specie se essa è protratta nel tempo. La percentuale di umidità del *Maiorchino*, dopo 6 mesi di maturazione, era più elevata rispetto a quanto riportato per il Pecorino Siciliano con pari stagionatura (26,2-26,9%). Per il *Maiorchino* maturo (12 mesi) la percentuale si è attestata entro il *range* di valori indicati per lo stesso formaggio (12 mesi: 30,8-33,1%). Dopo 24 mesi il tenore di umidità era inferiore rispetto a quanto segnalato per il Parmigiano-Reggiano DOP stagionato per un periodo pressoché sovrapponibile (30,8%). La percentuale in grasso dei campioni a media e

Tabella 1. Indici chimico-fisici e microbiologici del *Maiorchino*.

Parametri	Campioni di <i>Maiorchino</i>					
	1	2	3	4	5	6
pH	4,99	5,41	5,20	5,15	4,87	4,85
A_w	0,97	0,95	0,92	0,94	0,88	0,85
NaCl (%)	2,42	2,71	2,80	2,89	2,96	3,17
Umidità (%)	33,2	31,3	30,1	30,9	30,4	29,6
Grasso (%)	25,9	27,8	28,0	28,6	29,1	30,2
Azoto totale (%)	26,3	27,6	27,7	28,2	28,7	29,1
Solidi totali (%)	66,8	68,7	69,9	69,1	69,6	70,4
LAB 30 (UFC/g)	$1,8 \cdot 10^8$	$7,0 \cdot 10^5$	$6 \cdot 10^5$	$6,4 \cdot 10^8$	<10	<10
LAB 42 (UFC/g)	$4,8 \cdot 10^8$	$2,2 \cdot 10^7$	$4,2 \cdot 10^7$	$6,7 \cdot 10^6$	<10	<10

LAB, lactic acid bacteria; UFC, unità formatrici di colonie.

lunga stagionatura, più elevata rispetto al prodotto fresco, era inferiore al 37%, valore indicato orientativamente da altri autori per il *Maiorchino* (ARAS, 2001). Nel formaggio dopo 8 e 12 mesi di maturazione i valori di sostanza secca superavano di poco i *range* indicati per il Pecorino Romano stagionato per 10 mesi (65,76-66,96%) (Salvadori Del Prato, 1998). Il contenuto in sostanze azotate, caratterizzato da un andamento crescente nei formaggi a stagionatura medio-lunga, risultava più ridotto rispetto a quello riferito per il Pecorino Siciliano stagionato per 6 (38,6-39,3%) e 12 mesi (39,9-45,1%) (Mucchetti e Neviani, 2006). L'incremento della quota di NaCl nei campioni più maturi è da ritenere un fenomeno usuale per tali formaggi. Nel complesso, il contenuto in NaCl del *Maiorchino* si collocava in una posizione intermedia, rispetto a quanto riportato da vari autori per il Pecorino Siciliano (Mucchetti e Neviani, 2006); inoltre, esso era inferiore a quanto indicato per il *Maiorchino* (circa 5%) (ARAS, 2001). L'incremento della quota di NaCl nei campioni più maturi è stato ricondotto al suo assorbimento nella porzione interna della forma. Per il Pecorino Siciliano maturo (circa 12 mesi) sono state indicate percentuali superiori di umidità, grasso, proteine e NaCl (31,50; 28; 32,75; e 3,5; rispettivamente) (Salvadori Del Prato, 1998), rispetto a quanto constatato nel *Maiorchino* stagionato per 12 mesi. L'aumento delle percentuali in sostanze azotate totali, grasso, NaCl e sostanza secca, con il progredire della stagionatura, rappresenta la conseguenza del cosiddetto *effetto concentrazione*, correlabile al ridotto tenore in umidità. Il trend di tali componenti va anche ricondotto alle usuali modificazioni cui soggiacciono i formaggi nel corso della loro maturazione.

Nella frazione volatile del *Maiorchino* sono stati identificati 54 composti di diversa natura chimica (Tabella 2). I composti maggiormente rappresentati erano gli acidi grassi a corta e media catena; sono stati identificati tutti gli acidi a catena lineare da C₂ a C₁₂. Gli acidi grassi si formano durante la maturazione del formaggio ad opera di enzimi lipolitici. Nel caso del *Maiorchino*, essi derivano essenzialmente dal tipo di caglio utilizzato. Infatti, com'è noto, il caglio naturale in pasta di agnello e/o capretto, a differenza dei cagli liquidi e di quelli in polvere, contiene anche esterasi pregastriche che presentano un'elevata specificità per i trigliceridi contenenti acidi grassi a corta catena. Questi ultimi impartiscono al formaggio il tipico gusto *ircino* marcato e piccante (McSweeney e Sousa, 2000). Particolarmente significativo era il contenuto di acido esanoico, seguito, in ordine decrescente da acido decanoico, ottanoico e butanoico. Valori decisamente inferiori si sono rilevati per gli acidi 4-cis decanoico, acetico, benzoico, nonanoico, eptanoico, pentanoico,

propionico e 2-metil propanoico. Le concentrazioni aumentavano notevolmente dopo 12 mesi di stagionatura, riducendosi moderatamente nel prodotto con stagionatura superiore ai 24 mesi. Ciò ha fatto ipotizzare che durante il periodo di maturazione abbia luogo un'intensa attività lipolitica, con una massima espressione nel formaggio stagionato per 12 mesi. Gli acidi esanoico, ottanoico, benzoico e nonanoico sono componenti essenziali per l'aroma intenso dei formaggi con latte di capra (Engel *et al.*, 2002; Le Quéré *et al.*, 1996). Gli acidi grassi volatili sono composti fondamentali per l'aroma dei formaggi in quanto conferiscono le note principali all'aroma stesso e fungono da precursori di altri importanti componenti volatili aromatici, quali metilchetoni, alcoli, aldeidi ed esteri (Verzera *et al.*, 2010).

Anche gli esteri costituivano la classe di composti molto rappresentata nel *Maiorchino* (esteri metilici, etilici, propilici e butilici degli acidi grassi). Tali composti sono principalmente prodotti a seguito di una reazione enzimatica o chimica tra acidi grassi e alcoli primari (Engels *et al.*, 1997). La presenza di esteri nel formaggio *Maiorchino* è da ritenersi usuale, in relazione ad una notevole quota di acidi grassi, che vanno incontro a reazioni di esterificazione in presenza di alcoli. Alcuni metil esteri, quali metil esanoato, metil ottanoato, metil decanoato, riscontrati nel *Maiorchino*, risultano documentati da lungo tempo per formaggi svizzeri (Langler, 1966). Nei campioni di *Maiorchino* gli esteri maggiormente presenti, per numero e quantità, erano gli esteri etilici (che conferiscono al formaggio note *fruttate*) (Verzera *et al.*, 2010); in particolare, l'esanoato, il decanoato ed il butanoato di etile erano preponderanti. Nel *Maiorchino* stagionato per 12 mesi erano presenti in quote più elevate ottanoato di etile, esanoato di butile, butanoato di etile, esanoato di metile, ottanoato di butile, esanoato di propile.

L'esanoato di etile (note di *mela acerba*) è stato riscontrato in quote elevate nel Pecorino Romano e nel Fiore Sardo stagionati per 12 mesi. Inoltre, il composto costituiva uno dei principali esteri nel Canestrato Pugliese, con pari stagionatura. L'elevato contenuto degli esteri nel Canestrato Pugliese è stato attribuito all'attività delle esterasi dei batteri lattici non starter (NSBL) (Di Cagno *et al.*, 2003). Butanoato di etile, ottanoato di etile, esanoato di metile, unitamente a esanoato di etile, acetato di etile, decanoato di etile sono stati identificati tra gli esteri maggiormente rappresentati anche nel Parmigiano-Reggiano (McSweeney e Sousa, 2000). Metil decanoato, etil butanoato, butil butanoato, etil esanoato, etil eptanoato, metil decanoato, butil decanoato, propil decanoato, rilevati nel *Maiorchino*, derivando dal catabolismo degli acidi grassi a corta catena, sembrano contribuire all'aroma di formaggi tradizionali ottenuti da caglio in

pasta di agnello e capretto (de Renobales *et al.*, 2013).

Gli esteri forniscono un apporto notevole per l'aroma dei formaggi in quanto, conferendo note aromatiche *floreali e fruttate*, tendono ad alleggerire le note di *pungente* e di *amaro* impartite da acidi grassi ed ammine, rispettivamente (Pinho *et al.*, 2003). Sono stati identificati, altresì, alcoli lineari, quali 2-butanolo, butanolo ed 1-esanolo, presenti fino a 6 mesi di stagionatura; 2-furfuril alcol ed allil alcol erano rilevati in tutti i formaggi esaminati. Essi hanno subito una graduale diminuzione nei formaggi a più lunga stagionatura, in quanto, nel corso della stessa, si legano agli acidi grassi per formare i rispettivi esteri. Alcuni alcoli (tra cui 1-esanolo e 1-butanolo) impartiscono ai formaggi note *fruttate* e di *nocciole* (Engels *et al.*, 1997). I chetoni presenti nel *Maiorchino* hanno notevole importanza dal punto di vista olfattivo. In particolare, 2-eptanone, 2-nonanone e 2-undecanone sono i principali responsabili dell'aroma dei formaggi erborinati e della maggior parte dei formaggi duri, quali Cheddar e Parmigiano Reggiano (Verzera *et al.*, 2010). Tali composti erano presenti in quote elevate nel formaggio stagionato per 12 mesi, riducendosi nel *Maiorchino* più maturo (24 mesi). Il d nonalattone, rilevato nel *Maiorchino*, è responsabile di note *grasse, cremose, di latte, olio, burro* (Dufossé *et al.*, 1994). I lattoni più comunemente presenti nel formaggio conferiscono note *fruttate* e di *crema dolce fermentata* (Ziino *et al.*, 2005).

Sono state rilevate anche alcune aldeidi (furfurale, 5-metil furfurale e 2-furan-dicarbaldeide), la cui concentrazione decresceva con il procedere della stagionatura. Infatti, il furfurale, prodotto intermedio della reazione di Maillard (Corradini, 2005), si forma durante la cottura della cagliata; unitamente alle restanti aldeidi, esso tende progressivamente a ridursi dopo la caseificazione. Detti composti possono derivare dalla degradazione termica dei polisaccaridi, sebbene la formazione di componenti odorosi di matrice aldeidica possa ricondursi anche alla degradazione non enzimatica del lattosio. Tali composti impartiscono ai prodotti caseari note di *cotto* e di *latte riscaldato* (O'Brien, 2009). Il limonene è risultato l'unico terpene presente in quote discretamente elevate nel formaggio a 6 mesi di stagionatura, con livelli molto ridotti nel formaggio maturo (24 mesi). Tale terpene, unitamente agli idrocarburi nel *Maiorchino*, può derivare dall'alimentazione degli animali. Limonene (note di *limone*, di *luce*), 1,8-cineolo (note di *fresco* e di *eucalipto*) e pinene (note di *luce* e di *pino*) sono componenti ben noti degli olii essenziali delle piante, specie quelle di limone, ampiamente diffuse in Sicilia. Il contenuto del limonene nel *Maiorchino* potrebbe essere correlato al pascolo fresco, tipico della stagione primaverile.

Tabella 2. Contenuto medio dei composti volatili identificati nel Maiorchino a diversi mesi di stagionatura.

Composti	Mesi di stagionatura			
	6	12	24	
Acidi	Acido acetico	12.646	15.146	10.698
	Acido propionico	576	1354	553
	Acido 2-metil propanoico	338	391	344
	Acido butanoico	137.643	221.023	208.954
	Acido pentanoico	1112	2412	2755
	Acido esanoico	331.774	498.295	479.473
	Acido eptanoico	2670	5674	5848
	Acido ottanoico	172.338	325.730	275.341
	Acido nonanoico	3259	7611	6673
	Acido decanoico	240.722	498.942	362.830
	Acido 4-cis decanoico	12.973	27.263	19.605
	Acido undecanoico	1338	1957	2177
	Acido benzoico	3377	3538	2829
	Acido dodecanoico	36.184	69.620	90.957
Totale	944.304	1.678.956	1.469.037	
Esteri	Butanoato di etile	3564	1186	1693
	Pentil butanoato	201	-	-
	Esanoato di metile	2400	1226	732
	Butanoato di butile	158	925	732
	Esanoato di etile	17.382	19.924	11.638
	Esanoato di propile	1451	1581	179
	Eptanoato di etile	196	210	-
	Ottanoato di metile	497	917	496
	Butanoato di esile	-	1278	-
	Esanoato di butile	7947	2160	616
	Ottanoato di etile	8125	7375	3889
	Ottanoato di propile	668	995	126
	Decanoato di metile	796	3954	431
	Esanoato di esile	373	426	89
	Ottanoato di butile	1566	1461	-
	Decanoato di etile	16.097	19.824	12.456
	Etil-4-decenoato	772	823	201
	Butil decanoato	-	2155	-
	Decanoato di propile	-	1557	-
	Decanoato di butile	1118	1533	129
Etil butanoato	733	5833	1099	
Allil butirrato	76	3827	411	
Pentil esanoato	1205	9061	1063	
Totale	65.325	88.231	35.980	
Chetoni	2-Eptanone	435	1886	376
	2-Nonanone	-	1414	955
	2-Undecanone	490	1050	702
	δ-Nonalattone	733	287	212
	Totale	1658	4637	2245
Aldeidi	Furfurale	4282	2373	1188
	5-Metil furfurale	1527	1059	962
	2-Furan-dicarbaldeide	1923	825	493
	Totale	7732	4257	2643
Alcoli	2-Butanolo	881	-	-
	Butanolo	1067	-	-
	1-Esanolo	627	-	-
	2-Furfuril alcol	2790	1126	529
	Allil alcol	671	357	118
	Totale	6036	1483	647
Terpeni	Limonene	1140	578	271
	Totale	1140	578	271
Idrocarburi	Tetradecano	552	1127	125
	Pentadecano	692	-	-
	Esadecano	477	-	-
	Pentacosane	1060	-	-
	Totale	2781	1127	125

Per valutare le quantità di ciascun composto sono state utilizzate unità arbitrarie (area del picco).

L'analisi statistica dei dati ha fatto evidenziare che, durante la stagionatura, gli acidi grassi mostravano un trend crescente fino a 12 mesi. Il trattamento dei dati ottenuti dal PCA ha consentito di rilevare alcune differenze tra i composti volatili aromatici che subivano modificazioni al variare della stagionatura. Il tempo stagionatura di 12 mesi è risultato il periodo migliore sotto il profilo aromatico, in quanto si è osservato il maggior contenuto di sostanze volatili responsabili dell'aroma del *Maiorchino*. Fino a tale periodo, infatti, l'azione lipolitica è risultata massima. Con il proseguire della stagionatura, fino a oltre 24 mesi, tutte le classi di sostanze volatili tendevano a ridursi.

Nella componente microbica del formaggio, dopo 20 giorni di stagionatura, il tenore in flora mesofila, enterobatteri totali e stafilococchi era pari a $1,8 \cdot 10^7$, $2,7 \cdot 10^6$ e $1,8 \cdot 10^4$ UFC/g, rispettivamente. Nello stesso campione sono stati riscontrati, inoltre, solo lieviti, con cariche pari a $4,5 \cdot 10^5$ UFC/g. I restanti formaggi presentavano valori <10 UFC/g; assenti i microrganismi anaerobi solfito-riduttori. Il riscontro di enterobatteri totali e di stafilococchi coagulasi positivi è stato ricondotto a probabili discrasie verificatesi nel corso del processo produttivo. Tale rilievo nel prodotto fresco può avere anche testimoniato la resistenza dei microrganismi al riscaldamento della forma in fascera ed alla salagione del formaggio. La presenza di enterobatteri, quali indicatori delle condizioni di igiene di processo, deve comportare una corretta implementazione delle buone pratiche di lavorazione. Gli stafilococchi mostravano un valore adeguato per un prodotto a latte crudo; le basse cariche di *S. aureus*, rilevate nel formaggio, non implicano l'esistenza di un pregiudizio di ordine igienico-sanitario. I lieviti potrebbero essere annoverati tra la flora tipica del formaggio. Il mancato riscontro di batteri anaerobi solfito-riduttori è risultato confortante sotto il profilo igienico-sanitario, facendo escludere una contaminazione di origine esogena ed endogena del latte. Nel campione n. 1 era presente una quota elevata di LAB 30 e LAB 42 ($1,8 \cdot 10^8$ UFC/g e $4,8 \cdot 10^8$ UFC/g, rispettivamente). Per LAB 30 si notava una progressiva riduzione fino 8 mesi di stagionatura ($6 \cdot 10^5$ UFC/g), con successivo incremento nel formaggio stagionato per 12 mesi ($6,4 \cdot 10^8$). I LAB 42 subivano un decremento graduale fino a 12 mesi di maturazione, fino a livelli di $6,7 \cdot 10^6$ UFC/g. Nei restanti formaggi i batteri lattici non erano rilevabili. Per quasi tutti i campioni, la flora lattica ha compreso, presumibilmente, una componente molto eterogenea della microflora naturale del formaggio, visto che la tecnologia del *Maiorchino* non prevede l'aggiunta di colture starter. Inoltre, l'uso di latte crudo e misto può avere influito sulla presenza di una flora variegata, nell'ambito della quale i batteri lattici mesofili hanno esercitato una certa influenza sull'entità della flora

aerobia mesofila totale. È stata notata una certa prevalenza dei LAB termofili, selezionati dall'effetto della cottura della cagliata, nonché dalla permanenza della forma in scotta. La consistente disidratazione della pasta del formaggio, a 17 e 24 mesi di stagionatura, sarebbe stata la causa della drastica riduzione della flora lattica. Quest'ultima potrebbe avere contribuito alle variazioni della componente volatile nel corso della maturazione del formaggio. Al pari di quanto indicato per il Canestrato Pugliese, ad esempio, la presenza di elevate quote di esteri sarebbe da attribuire all'attività delle esterasi dei batteri lattici non starter (Di Cagno *et al.*, 2003).

Conclusioni

Il profilo delineato per il *Maiorchino* è quello di un prodotto di buona valenza, sia per la sua composizione sia per la flora lattica, nonché per la componente volatile. Nel formaggio sono stati individuati numerosi composti che concorrono a determinare un profilo aromatico molto complesso. L'aroma è determinante ai fini dell'accettabilità di un formaggio da parte del consumatore; inoltre, lo studio dei composti volatili responsabili dell'aroma contribuisce alla caratterizzazione del prodotto e a definirne la qualità. Difatti, il *fingerprint* aromatico delinea l'impronta digitale per un prodotto caseario, conferendo ad esso una precisa identità, anche in relazione al periodo di maturazione.

Altri fattori contribuiscono alla valorizzazione e all'identità del *Maiorchino*; essi permettono di distinguerlo dal Pecorino Siciliano DOP. Si ricordano, a tal proposito, il periodo di produzione, l'uso della fascera in legno (*garbua*), le dimensioni della cagliata e la cottura della stessa, la raccolta manuale della cagliata in un'unica massa sferica, l'aspetto esteriore della forma, con superfici levigate. Tali elementi, unitamente ad altri, sono peculiari per il formaggio *Maiorchino*.

Le informazioni fornite in questa sede possono contribuire ad una migliore conoscenza delle caratteristiche del *Maiorchino* e per la definizione di standard qualitativi. Ormai da lungo tempo, le iniziative mirate alla valorizzazione del *Maiorchino* si fanno spazio da più parti, con l'intento di ottenere un prestigioso riconoscimento al prodotto. Si auspica, pertanto, che quanto riportato nel presente studio per il *Maiorchino* sia considerato anche un ausilio per il raggiungimento di taluni obiettivi. La ricerca scientifica, comunque, lascia un capitolo aperto per un formaggio che possiede le potenzialità per risvolti di deciso interesse, in particolare l'auspicata certificazione di formaggio DOP.

Bibliografia

- AOAC, 2000. Official methods of analysis. 17a ed., Association of Official Analytical Chemists ed., Washington, DC, USA.
- APHA, 1992. Standard methods for the examination of dairy products. 16a ed. American Public Health Association ed., Washington, DC, USA.
- APHA, 2001. Compendium of methods for the microbiological examination of food. 4a ed. American Public Health Association ed., Washington, DC, USA.
- ARAS, 2001. Area tecnico-scientifica. I formaggi storici di nicchia della Sicilia. Associazione Regionale Allevatori della Sicilia-Tipografia Alaimo ed., Palermo, Italia.
- Barbano DM, Clark JL, Dunham CE, Fleming R, 1990. Kjeldal method for determination of total nitrogen content of milk: collaborative study. J Assoc Off Ana Chem 73:849-59.
- Conte F, Panebianco A, 2001. Il *Maiorchino*: origini, collocazione "geografico-casearia", tecnologia e note igienico-sanitarie. Latte 1:34-47.
- Corradini C, 1995. Chimica e tecnologia del latte. Tecniche Nuove, Milano, Italia.
- de Renobales M, Virto M, Barrow LJR, 2013. Rennet and sensory characteristics of traditional cheeses. In: Preedy VR, Ross Watson R, Patel VB, eds. Handbook of cheese in health: production, nutrition and medical sciences. Wageningen Academic Publ., The Netherlands, pp 103-21.
- Di Cagno R, Banks J, Sheehanc L, Fox PF, Brechany EY, Corsetti A, Gobbetti M, 2003. Comparison of the microbiological, compositional, biochemical, volatile profile and sensory characteristics of three Italian PDO ewes' milk cheeses. Int Dairy J 13:961-72.
- Dufossé L, Latrasse A, Spinnler H-E, 1994. Importance des lactones dans les arômes alimentaires: structures, distribution, propriétés sensorielles et biosynthèse. Sci Aliment 14:17-50.
- Engels WJM, Dekker R, de Jong C, Neeter R, Visserr SA, 1997. A comparative study of volatile compounds in the water-soluble fraction of various types of ripened cheese. Int Dairy J 7:255-63.
- Engel E, Lombardot JB, Gareme A, Leconte N, Septier C, Le Quéré JL, Salles C, 2002. Fractionation of the water. Soluble extract of a cheese made from goats' milk by filtration methods: behaviour of fat and volatile compounds. Int Dairy J 12:609-19.
- FIL-IDF 1997. Standard 152A. Lait et produits laitiers, détermination de la teneur en matière grasse. Guide de directives

- générales appliquées aux méthodes butyrométriques. Fédération Internationale de Laiterie ed., Bruxelles, Belgio.
- Langler JE, 1966. Flavor chemistry of swiss cheese. Tesi di Dottorato, Università dell'Oregon ed., Eugene, OR, USA. Disponibile al sito: <https://ir.library.oregonstate.edu/xmlui/handle/1957/26791>
- Le Quéré JL, Demaizieres D, Negrello C, Lesschaeve I, Issanchou S, Salles C, 1996. Goat cheese flavor: identification of the character impact compound. *Int Dairy F* 9603:205-8.
- McSweeney PLH, Susa MJ, 2000. Biochemical pathways for the production of flavor compounds in cheeses during ripening: a review. *Lait* 80:293-324.
- Mucchetti G, Neviani E, 2006. Microbiologia e tecnologia lattiero-casearia. Qualità e sicurezza. Tecniche Nuove, Milano, Italia.
- O'Brien J 2009. Non-enzymatic degradation pathways of lactose and their significance in dairy products. In: McSweeney PLH, Fox PF, eds. *Advanced dairy chemistry. Lactose, water, salts and minor*. Springer, New York, NY, pp 231-94.
- Pinho O, Peres C, Ferreira IMPLVO, 2003. Solid-phase microextraction of volatile compounds in "Terrincho" ewe cheese. Comparison of different fibers. *J Chromatogr A* 1011:1-9.
- Repubblica Italiana, 2014. Decreto del 5 Giugno 2014 del Ministero delle Politiche Agricole Alimentari e Forestali (Mi.P.A.A.F.). Quattordicesima revisione dell'elenco nazionale dei prodotti agroalimentari. In: *Gazzetta Ufficiale della Repubblica Italiana*, 141 Suppl. 48, 20/06/2014. Disponibile al sito: <http://www.gazzettaufficiale.it/eli/id/2014/06/20/14A04557/sg>
- Salvadori Del Prato O, 1998. *Trattato di tecnologia casearia*. Edizioni Agricole, Bologna, Italia.
- Van den Dool H, Kratz PD, 1963. Generalization of the retention index system including linear temperature programmed gas-liquid partition chromatography. *J Chromatogr* 11:463-70.
- Verzera A, Conurso C, Ziino M, Romeo V, Todaro M, Conte F, Dima G, 2010. Free fatty acids and other volatile compounds for the characterisation of "Vastedda della Valle del Belice". *CyTA J Food* 8:237-43.
- Vizzardi M, Maffei P, 1990. *Formaggi italiani. Storia e tecniche di preparazione*. Edizioni Agricole, Bologna, Italia.
- Ziino M, Conurso C, Romeo V, Giuffrida D, Verzera A, 2005. Characterization of "Provola dei Nebrodi", a typical Sicilian cheese, by volatiles analysis using SPME-GC/MS. *Int Dairy J* 15:585-93.