

UNIVERSITA' DEGLI STUDI DI PADOVA

DIPARTIMENTO DI SCIENZE CHIMICHE

CORSO DI LAUREA IN CHIMICA INDUSTRIALE

La chimica del formaggio: l'influenza del pH nei processi di produzione e stagionatura

Relatore: Prof. Saverio Santi

**Laureando: Nicholas Maggiolo
n° 2000351**

Anno Accademico: 2022/2023

INDICE

1. INTRODUZIONE.....	2
1.1 IL FORMAGGIO.....	2
1.2 IL LATTE.....	3
1.2.1 LE CASEINE.....	5
2. PARAMETRI DA VALUTARE NELL'ANALISI DEL LATTE.....	7
2.1. L'ACIDITA' DEL LATTE.....	8
2.1.1 ACIDITA' REALE.....	8
2.1.2. ACIDITA' TITOLABILE.....	9
2.1.3. MISURAZIONE DELL'ACIDITA'.....	10
2.1.4. SIGNIFICATO CONCRETO DELL'ACIDITA' DI TITOLAZIONE.....	12
3. CONTROLLO DEL LATTE E DELLA FASE DI MATURAZIONE.....	13
4. L' EFFETTO DEL pH NELLA QUALITA' DEL FORMAGGIO.....	14
4.1. COAGULAZIONE DEL CAGLIO.....	14
4.2. SINERESI DEL SIERO DEL LATTE.....	15
4.3. ASSORBIMENTO DEL SALE.....	16
4.4. ATTIVITA' ENZIMATICA.....	17
4.5. MICROSTRUTTURA E PROPRIETA' REOLOGICHE.....	18
5. CONCLUSIONI.....	21
BIBLIOGRAFIA.....	22

1. INTRODUZIONE

Nella produzione del formaggio vi sono molti parametri che devono essere controllati al fine di ottenere un prodotto di qualità adatto alle richieste del consumatore. In questo elaborato viene discusso il ruolo e il controllo del pH e dell'acidità nelle varie fasi della caseificazione e della stagionatura. La differenza tra pH e acidità del latte, sebbene tra loro dipendenti, è sottile ma importantissima e i loro valori forniscono indicazioni diverse e complementari. Il pH indica l'acidità attuale, ovvero la concentrazione di ioni idrogeno disciolti, e rappresenta uno dei parametri più significativi poiché da esso dipendono in modo cruciale le proprietà organolettiche e la qualità del prodotto finale. Infatti, esso influenza le varie fasi della caseificazione come la coagulazione del caglio, la sineresi del siero del latte e la microstruttura finale. L'acidità indica l'acidità titolabile totale dovuta dal contributo anche degli ioni idrogeno non disciolti e rappresenta l'acidità naturale del latte che, come vedremo, è l'insieme di alcune funzioni acide apportate da proteine, sali minerali e acidi organici presenti nel latte. Il suo controllo permette di evitare lo sviluppo di batteri anticaseari o dannosi alla salute del consumatore.

1.1 IL FORMAGGIO

La produzione del formaggio è un processo molto antico, derivante dalla fermentazione del latte: esso fu prodotto per la prima volta in modo accidentale ben 8000 anni fa. Esistono moltissime varietà di formaggio, anche molto diverse tra di loro: sebbene spesso il processo produttivo sia simile, basta variare pochi parametri per ottenere caratteristiche organolettiche di notevole differenza.

Il formaggio può essere ottenuto dalla lavorazione del latte di diversi animali, più comunemente da quello vaccino. Solitamente quest'ultimo viene pastorizzato con un breve riscaldamento attorno ai 70°C, con lo scopo di eliminare i batteri indesiderati, e poi viene raffreddato. Successivamente vengono aggiunti il caglio e i batteri che aiutano ad iniziare il processo di formazione e si lascia reagire per circa un'ora a 30/40°C. I batteri sono i responsabili della fermentazione del lattosio in acido lattico: ne consegue un abbassamento del pH a circa 4.6, ideale per l'azione di alcuni enzimi come la chimosina (o rennina) che permette la coagulazione della caseina per formare la cagliata. I batteri iniziali svolgono altre azioni di spiccata importanza, come il metabolismo dell'acido citrico e la rottura delle

proteine. Infine, la cagliata tiepida viene lasciata riposare per un paio di ore prima che avvenga la separazione dal siero del latte (figura 1).¹

Se si applicano delle modifiche al processo appena analizzato, è possibile ottenere una vasta gamma di formaggi (figura 2): se per esempio la cagliata drenata non viene lasciata stagionare si ottiene un formaggio più morbido e meno saporito, mentre se i batteri che iniziano il processo fungono anche da coagulante allora ne consegue un prodotto più duro e con un forte gusto (come per esempio il parmigiano o il cheddar).¹

Nel 2019 la produzione mondiale di formaggio ha raggiunto quasi 26 milioni di tonnellate, vedendo tra i maggiori produttori USA, Germania e Francia. In questi anni è cresciuta anche la domanda di formaggi di alta qualità aventi caratteristiche peculiari; la produzione di questi non è però semplice, dato che le variabili sono tante e devono essere mantenute costanti ogni volta che si voglia produrre quello stesso tipo.² Il pH è uno dei parametri più cruciali da monitorare, dato che influenza gli aspetti chimici, biochimici e microbiologici: condiziona l'assorbimento e la diffusione del sale, l'attività enzimatica durante la fase di maturazione, la crescita della microflora del formaggio e la distribuzione del calcio nelle micelle e nel siero, come verrà esposto dettagliatamente più avanti.



Figura 2: fase di produzione del formaggio.



Figura 1: vari tipi di formaggio.

1.2 IL LATTE

Il latte è il principale componente del formaggio. Esso è composto per lo più da acqua e per il restante da quello che è definito "latte solido", che si divide in più parti: grasso, minerali, lattosio e proteine. La composizione del latte è diversa tra le specie animali ma anche a seconda della razza, dato che anche i fattori genetici influenzano la sua produzione. Inoltre, essa dipende dallo stato fisiologico dell'animale e dalla sua alimentazione.

Di seguito sono riportate le composizioni dei diversi tipi di latte provenienti da diverse specie (tabella 1):

Origine	Acqua %	Lipidi %	Proteine %	Lattosio %	Energia MJ/kg
Donna	87,0	4,5	1,0	7,0	3,2
Vacca	87,7	3,5	3,3	5,0	2,9
Pecora	83,3	6,0	5,5	4,5	4,4
Capra	86,8	4,5	3,5	4,5	3,3
Bufala	81,2	8,0	5,0	5,0	5,1
Coniglia	65,0	18,0	14,0	2,0	10,6

Tabella 1: composizioni dei diversi tipi di latte.³

La struttura del latte è molto complessa; esso è infatti costituito da:

- siero, una soluzione contenente lattosio, sieroproteine, sali minerali e vitamine idrosolubili;
- soluzione colloidale costituita da caseina e sali di fosfato di calcio;
- emulsione di lipidi e vitamine liposolubili;
- sospensione formata da cellule e microorganismi.

Una componente molto importante nella produzione del formaggio è costituita dalle caseine (80% delle proteine totali): esse non si sciolgono e una volta coagulate conferiscono assieme ad altre componenti struttura ai formaggi. Esse contengono vari amminoacidi tra cui serina, treonina fosforilata e prolina, che non formano ponti disolfuro. Le caseine si differenziano dalle sieroproteine (α -lattalbumina, β -lattoglobulina, sieralbumina e immunoglobina) perché queste ultime (figura 3) restano in soluzione e spesso rimangono nel siero dopo la caseificazione; contengono inoltre ponti disolfuro, non sono fosforilate e sono termolabili. Le sieroproteine sono solubili in acqua e non coagulano per effetto degli enzimi perché possiedono una struttura globulare difficilmente attaccabile. Oltre a tale caratteristica, esse non sono nemmeno coagulabili tramite acidificazione e si denaturano in presenza di calore.⁴



Figura 3: α -lattalbumina e β -lattoglobulina.

1.2.1 LE CASEINE

Le caseine costituiscono assieme ai sali di fosfato di calcio la soluzione colloidale del latte: si trovano disperse in esso sotto forma di micelle sferiche con diametro che sta nel range 30-600 nm (figura 4). Ogni micella contiene circa 20000 molecole di caseina ed è costituita da aggregati di submicelle, composte a loro volta da α , β e k-caseina, proteine random coil. Mentre l' α - e la β -caseina contengono gruppi fosfato, la k-caseina è una glicoproteina che è sparsa sulla superficie della micella e ha lo scopo di stabilizzarla e renderla solubile in acqua. Le micelle sono poi legate tra loro da legami ionici col calcio. Le α - e le β -caseine non hanno una struttura ordinata dato che non possiedono ponti disolfuro in grado di dare tale ordine; non possiedono dunque una struttura terziaria e ciò, oltre a conferire un'elevata stabilità al calore, induce l'esposizione dei residui idrofobici, portandole ad essere idrofobiche ed insolubili in acqua. In conseguenza a ciò, nel latte si aggregano in micelle che contengono al loro interno anche altre sostanze tra cui sali minerali ed enzimi. A differenza delle due caseine precedenti, la k-caseina possiede un solo gruppo fosforico ma ha anche una parte glucidica; è idrofila ed è strutturata in due parti:

- N-terminale idrofoba essenziale nella coagulazione dato che determina l'aggregazione micellare;
- COOH-terminale idrofila indispensabile per mantenere in soluzione le micelle.

La presenza in quantità maggiore delle k-caseine nella superficie delle micelle evita la formazione di aggregati troppo grandi: esse sono cariche negativamente al pH del latte e dunque generano repulsioni elettrostatiche che portano alla separazione.⁴

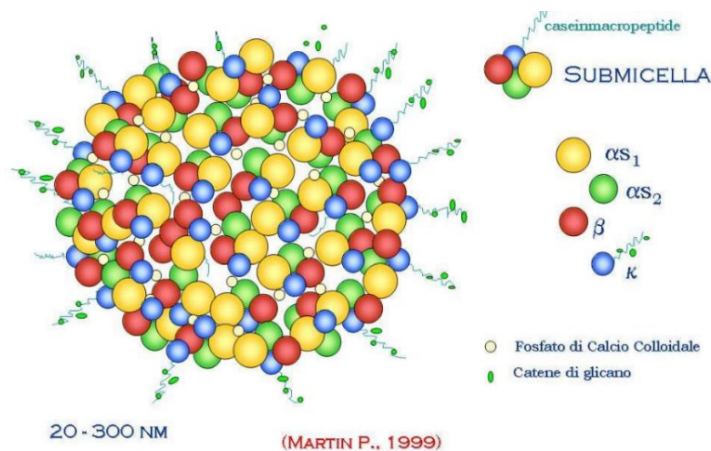


Figura 4: micelle di caseina

Le caseine, non coagulando col calore, non subiscono perdite rilevanti durante i processi di trattamento termico del latte come la pastorizzazione o la sterilizzazione: esse coagulano invece per acidificazione o per azione di alcuni enzimi proteolitici come la chimosina (detta anche rennina). In condizioni normali tale addensamento non avviene dato che al pH del latte, che si aggira su un valore di 6.9, le particelle possiedono una carica elettrica negativa che comporta una mutua repulsione; inoltre la catena oligosaccaridica della parte C-terminale della k-caseina sfavorisce tale processo.

Nella coagulazione acida viene portato il latte ad un pH vicino al punto isoelettrico, ossia 4.6. Ciò porta le micelle a diventare neutre e non più negative: l'interazione col calcio diminuisce con una conseguente perdita dalla micella di fosfato di calcio; inoltre le micelle iniziano ad aggregare e coagulano inglobando i grassi, portando alla formazione della cagliata, un gel morbido e fragile.

Nella coagulazione presamica, invece, il caglio, contenente un'alta concentrazione di chimosina, viene addizionato al latte a circa 30-37°C, temperatura alla quale gli enzimi portano al distacco della parte C-terminale della k-caseina facilitando la coagulazione.⁴

2. PARAMETRI DA VALUTARE NELL'ANALISI DEL LATTE

Il latte deve rispettare alcuni indici per poter essere utilizzato nei processi di lavorazione o essere consumato tal quale; di seguito vengono riportati tali parametri:

- Acidità reale (o pH): verrà discussa in dettaglio in seguito.
- Acidità titolabile (o totale): verrà discussa in dettaglio in seguito.
- Densità: il latte ha una densità media a 15 °C di 1.032 g/mL; il suo valore può variare in base alla sua composizione, diminuendo all'aumentare del grasso e al diminuire delle proteine. La densità viene valutata anche sul siero dato che, essendo privato di proteine e grassi, si aggira su valori più costanti.
- Punto di congelamento (crioscopico): dipende soprattutto da lattosio, cloruri e sieroproteine; la temperatura di congelamento aumenta al diminuire della concentrazione. Il valore, sebbene vari molto a causa di diversi fattori come razza, zona di allevamento, alimentazione, stagione dell'anno o dalle modalità del prelievo, costituisce un importante dato per valutare un eventuale annacquamento o scrematura.
- Residuo secco: si divide in residuo secco totale (RST), espresso in % m/m, corrisponde al peso delle sostanze non volatili ed è ottenuto trattando il latte a 100 °C, e in residuo secco magro (RSM), determinato togliendo il grasso al residuo secco totale.
- Potenziale di ossidoriduzione: misura le proprietà ossidanti o riducenti e viene utilizzato per valutare la presenza di microbi all'interno del latte. Quest'ultimo infatti appena munto ha un potenziale di circa +0.20/+0.30 V e nelle fasi di lavorazione subisce una diminuzione a causa dell'attività degli enzimi e dei microrganismi che consumano l'ossigeno.
- Sostanze inibenti: serve a rilevare eventuali sostanze farmacologiche assunte dagli animali che possono rimanere nel latte, e di sostanze disinfettanti usate nella sanificazione degli impianti o di antiparassitari che possono essere potenzialmente presenti nel cibo.⁵

Questi valori variano nei diversi animali, come riportato in tabella 2:

Parametri	Vacca	Pecora	Capra	Bufala
Acqua %	87,5	81,3	86,9	84,5
Grasso %	3,6 – 4,5	4,5 – 7,5	3,7 – 4,3	7,0 – 9,6
Proteine %	2,8 – 3,3	4,6 – 6,0	3,1 – 4,5	3,5 – 5,7
Caseina %	2,6 – 3,0	4,5	2,7	2,8 – 4,2
Albumine %	0,7 – 0,8	1,5	1,2	0,7 – 1,0
Lattosio %	4,9	4,1	4,3	4,8
Fosforo (mg / 100g)	65	80	90	120 – 140
Calcio (mg / 100g)	120	180	110	180 – 240
Ceneri %	0,90	1,10	0,90	0,85
pH	6,6 – 6,7	6,5 – 6,8	6,6 – 6,7	6,5 – 6,7
Acidità Titol. °SH/50	3,3 – 3,5	4,0 – 4,5	3,1 – 3,4	4,2 – 5,0
Densità (15°C)	1,028 – 1035	1,034 – 1040	1,028 – 1034	1,031 – 1034
Punto crioscopico (-°C)	0,52 – 0,55	0,55 – 0,57	0,52 – 0,54	0,56 – 0,59

Tabella 2: variazione dei parametri nei diversi tipi di latte.³

2.1. L'ACIDITA' DEL LATTE

L'acidità è un parametro fondamentale da monitorare nel latte, dato che influenza la struttura del coagulo e della cagliata, inibendo inoltre lo sviluppo e l'azione di batteri anticaseari o dannosi per il consumatore. Il latte è leggermente acido, dato che contiene al suo interno alcuni acidi sia organici, come l'acido citrico, che inorganici, per esempio l'acido carbonico, presenti sia in forma libera che legata alle micelle di caseina. Misurare l'acidità è dunque importante sia per capire lo stato di conservazione del latte e monitorare il processo di caseificazione, sia per valutare l'azione dei batteri lattici che in seguito alla mungitura iniziano a fermentare il lattosio in acido lattico abbassando ulteriormente il pH. L'acidità è dunque il risultato di due contributi: quello "naturale" ossia derivante dalla composizione intrinseca del latte contenete acidi, sostanze minerali e caseina, e quello "sviluppato" ossia derivante dalla produzione dell'acido lattico ad opera dei batteri lattici.⁶

2.1.1 ACIDITA' REALE

Rappresenta la concentrazione di ioni idrogeno reale presente nel sistema e il valore di pH del latte vaccino usualmente varia tra 6.6 e 6.8: è detta acidità "attuale" del latte. Discostamenti anche lievi da tali valori indicano la presenza di anomalie, dato che le proteine del latte possiedono proprietà anfotere che permettono di tamponare piccole variazioni di pH.

Il contenuto di caseina è un parametro che influenza il punto di equilibrio acido-base e di

conseguenza il pH: ne sono da esempio il latte umano (povero in caseina) che ha un pH che si aggira tra 7.0 e 7.5 e il latte di pecora (ricco in caseina) che ha un pH che va da 6.0 a 6.5. L'acidità reale è molto importante sia per le caratteristiche organolettiche del prodotto, dato che è un indice di freschezza, sia perché racchiude in sé l'idoneità ai processi di caseificazione: a pH minori viene sfavorita la coagulazione delle micelle caseiniche. Il latte acidificato è instabile al trattamento termico, tanto più accentuato quanto più il pH è inferiore. Anche gli stessi trattamenti termici portano verso valori di pH minori: la pastorizzazione porta ad un piccolo aumento di acidità per precipitazione del fosfato di calcio, mentre la sterilizzazione provoca una diminuzione più rilevante a causa della degradazione del lattosio.⁵

2.1.2. ACIDITA' TITOLABILE

- Si ottiene misurando i millilitri di una soluzione alcalina a titolo noto necessari per portare il pH di una determinata quantità di latte al punto di viraggio di un opportuno indicatore, che nel caso del latte è la fenolftaleina (pH viraggio 8.4): rappresenta dunque l'acidità "naturale" del latte. Per calcolare quanti e quali gruppi acidi vengono neutralizzati durante la titolazione al punto di viraggio della fenolftaleina, bisogna utilizzare la formula seguente, detta equazione di Henderson-Hasselbach:

$$pH = pK + \log_{10} \left(\frac{[\text{acido o base dissociati}]}{[\text{acido o base indissociati}]} \right)$$

Affinchè una funzione acida o basica possa essere considerata completamente titolata, il pH di fine titolazione deve discostare di almeno due unità dal valore di pK. L'acidità totale del latte è dunque la misura dell'acidità reale e di quella determinata dalle funzioni acide che si dissociano nell'intervallo di pH tra 6.6 e 8.4 (punto di viraggio dell'indicatore), divise in tre gruppi:

- acidità dovuta ai gruppi acidi della caseina, come gli esteri fosforici dell'amminoacido fosferina;
- acidità dovuta al gruppo carbonico e agli acidi organici sia liberi che legati alle micelle di caseina; tra questi vi sono anche l'acido citrico, gli α -ammino gruppi delle proteine e il gruppo amminico dell'amminoacido istidina;
- reazioni secondarie dovute ai fosfati, come la reazione tra lo ione Ca^{2+} con H_2PO_4^- , che porta alla formazione di fosfato di calcio e alla produzione di 4 ioni H^+ . Queste reazioni tra calcio e fosfati portano alla dissociazione anche della terza funzione acida

dell'acido fosforico senza raggiungere il pH di dissociazione relativo: durante la titolazione si quantificano tutti gli ioni idrogenati derivanti dalla dissociazione dell'acido fosforico, anche se ciò non dovrebbe accadere dal momento che la terza funzione acida dissocia a pH maggiori di 8.4.

L'acidità titolabile permette dunque di misurare indirettamente la quantità di caseina e fosfati presenti nel latte fresco analizzato.

2.1.3. MISURAZIONE DELL'ACIDITA'

Esistono diversi modi per esprimere l'acidità, utilizzati nelle diverse parti del mondo (tabella 3):

- Gradi °SH (Soxhlet-Henkel), che corrispondono ai mL di NaOH N/4 (0.25 N) necessari per neutralizzare 100 mL di latte; i valori medi oscillano tra 6 e 8 °SH/100 mL;
- Gradi °D (Dornic) che corrispondono ai mL di NaOH N/9 (0.11 N) necessari per neutralizzare 100 mL di latte;
- Gradi °Th (Thorner) che corrispondono ai mL di NaOH N/10 (0.1 N) necessari per neutralizzare 100 mL di latte.

L'acidità viene spesso espressa come acido lattico, anche se esso non è presente nel latte fresco; la conversione tra un grado °SH e l'acido lattico è la seguente: 1 °SH = 22.5 mg di acido lattico; i gradi Dornic furono introdotti proprio perché un grado °D equivale alla quantità di idrossido di sodio necessario per neutralizzare 10 mg di acido lattico.

°SH	°DORNIC	°LATTICI
6	13,50	0,1350
7	15,75	0,1575
8	18,00	0,1800
9	20,25	0,2025
10	22,50	0,2250
11	24,75	0,2475

Tabella 3: conversioni tra i diversi gradi di misura.³

Il valore di acidità è dunque diverso da quello del pH e variando questi due parametri le caratteristiche del latte cambiano radicalmente (tabella 4); ad esempio, per pH maggiori o

uguali a 6.9 si ha un'acidità espressa in °SH che è minore di 6 e si ha un latte mastitico fortemente annacquato, tipico della fase finale della lattazione. All'altro estremo, ossia per un pH che si aggira sui 5.2, l'acidità ha valori compresi tra i 25 e i 27 °SH: questo latte comincia a flocculare già a temperatura ambiente. Per i valori intermedi tra i due espressi precedentemente, si passa gradualmente diminuendo il pH da un latte fresco normale ad un latte che non sopporta prima la sterilizzazione e poi la pastorizzazione.⁵

Valori di pH e acidità per il latte vaccino			
pH	Tipologia prodotto	Acidità	
		°D	°SH
6,6 – 6,8	Latte fresco di vacca	16 – 19	7 – 8,5
6,9 – 7,2	Latte di tipo alcalino: latte patologico (latte mastitico), latte di fine lattazione, latte fortemente annacquato	15 e –	6,5 e –
6,5 – 6,6	Latte leggermente acido: latte di inizio lattazione, latte di massa	19 – 20	8,4 – 8,9
6,4	Latte che non sopporta la sterilizzazione a 110°C	~ 20	~ 8,9
6,1	Latte che non sopporta la pastorizzazione a 72°C	~ 24 e +	10,7 e +
5,2	Latte che inizia a flocculare già a temperatura ambiente	55 – 60	24,4 – 26,7
6,4	Siero (latticello)	9 – 13	25 – 27

Tabella 4: valori di pH e acidità per il latte vaccino.³

La misurazione consiste in una normale titolazione utilizzando un acidimetro (figura 5), aggiungendo il titolante (la soda) nel latte, nel quale è presente l'indicatore che da incolore passa ad essere rosa/viola e consentendone quindi la visione del punto di fine. Vengono comunemente utilizzati i gradi °SH/50, ossia l'acidità viene misurata in 50 mL di latte anziché i 100 convenzionali.⁶



Figura 5: acidimetro.

2.1.4. SIGNIFICATO CONCRETO DELL'ACIDITA' DI TITOLAZIONE

Vi è una relazione di complementarità tra il valore di pH e l'acidità di titolazione. Entrambi nel latte sono influenzati dalla concentrazione di caseina, fosfati e acido citrico; in particolare la quantità di caseina è inversamente proporzionale al valore di pH. È però importante notare che a valori uguali di pH possono corrispondere acidità di titolazione notevolmente diverse, a causa della presenza dei composti precedentemente elencati: l'acidità, infatti, diminuisce notevolmente se sono assenti caseina e fosfato colloidale. Di conseguenza, è vero anche il ragionamento contrario: due tipi di latte possono avere acidità di titolazione uguale ma valori di pH che discostano tra di loro, ad esempio nel caso in cui nei campioni in esame sia uguale il numero di funzioni acide da titolare, ma queste siano di diverso tipo, ossia aventi valori di pK differenti.

L'acidità di titolazione è inoltre correlata al potere tampone del latte e garantisce una stabilità del valore di pH attorno a 6.6/6.7 se non a causa di significative acidificazioni o alterazioni del contenuto di caseina e/o fosfati. L'acidità di titolazione non è utilizzabile a livello pratico per evidenziare lo sviluppo di batteri che possono portare a fermentazioni del lattosio, e dunque alla produzione di acido lattico, dato che le variazioni prodotte da tale processo non sono rilevanti, sebbene nel latte fresco la presenza di acido lattico sia solo in tracce; inoltre non tutti i batteri producono acido e dunque non sarebbero rilevati se fossero presenti. Tale parametro risulta invece importante per lo studio dell'acidità prodotta nei lattoinnesti e nei sieroinnesti: tanto più diminuisce il pH e tanto maggiore è il potere tamponante del latte. Per monitorare un'acidificazione è quindi opportuno utilizzare un sistema di misura e di analisi che origina variazioni più ampie rispetto alle variazioni del parametro in esame. Ne consegue che per la misurazione del pH è meglio porsi a valori di acidità distanti dal punto di massimo potere tampone, ossia dove le variazioni sono maggiori. Per l'acidità di titolazione, invece, è l'esatto contrario: la massima sensibilità si ha nel punto di massimo potere tampone, diventando importantissima nella determinazione dell'acidità del siero. Queste sono influenzate non solamente dalla quantità di caseina e di fosfati come precedentemente detto, ma anche dal calore, che determina una diminuzione dell'acidità, e dall'alimentazione dell'animale: cibi troppo ricchi in carboidrati fermentescibili alzano il livello di acidità, mentre in caso di scarso apporto energetico o salino per eccesso di proteine portano ad un abbassamento.⁷

3. CONTROLLO DEL LATTE E DELLA FASE DI MATURAZIONE

Il pH nel corso della lattazione rimane costante attorno ad un valore di 6.5/6.7, mentre l'acidità varia durante le varie fasi: per esempio nel latte di capra all'inizio del processo si aggira sui 3.0/3.4 °SH/50, per poi diminuire nella fase centrale e stabilizzarsi nella fase finale ad un valore più alto di quello iniziale, circa sui 4.0 °SH/50.

Nelle fasi successive della lavorazione si può ottenere un valore di acidità preciso prima dell'aggiunta del caglio, monitorando l'aggiunta di fermenti lattici, sieroinnesti o lattoinesti. La maturazione è una fase molto importante e da controllare scrupolosamente, nella quale vengono influenzati molti aspetti del prodotto finale, come la coesione della pasta, la stagionatura e lo sviluppo di aromi e sapori, ed è essenziale per evitare lo sviluppo di microrganismi dannosi. La maturazione del latte può essere di due tipi: lenta, ossia operando per 12 ore a circa 12 °C, o rapida se si opera per 4 ore a 20 °C.

Il controllo dell'acidità viene svolto principalmente in tre fasi della lavorazione: nell'aggiunta del caglio, nella fase di formatura ed infine, a seconda di cosa si sta producendo, nella sformatura (per esempio nella produzione di caprino nella lavorazione lattica) o nella salatura (per esempio nella produzione di formaggelle nella lavorazione presamica).⁶ La misura dell'acidità di titolazione è dunque essenziale ai fini della determinazione della qualità del latte e per capire se esso possa essere utilizzato nelle fasi successive di lavorazione dei prodotti caseari; grazie a tale parametro è possibile quantificare la presenza di caseina e di fosfati, essenziali nelle varie fasi produttive. Infatti, latti ipoacidi sono caratterizzati da tempi di coagulazione più lunghi, minor consistenza del coagulo e difficoltà di spurgo del siero, con conseguente aumento della probabilità di difetti nel prodotto finale o nella cagliata. Tipi di latte caratterizzati invece da iperacidità possiedono una tendenza maggiore ad una coagulabilità presamica ma anche a produrre cagliate troppo spurgate dal siero con conseguenti difetti nel formaggio.⁷

L'acidità di titolazione è inoltre importante per valutare la stabilità del latte ai trattamenti termici di sanificazione o di concentrazione, permettendo di escludere i tipi di latte che coagulerebbero col calore, o di valutare l'aumento di residuo secco magro derivante dai processi di concentrazione, che porta ad una minore stabilità termica della caseina.

4. L' EFFETTO DEL pH NELLA QUALITA' DEL FORMAGGIO

Esistono moltissime varietà di formaggio e negli anni sono stati proposti più modi di classificazione; uno di questi si basa sui valori di pH e attività dell'acqua del latte crudo.⁸ In generale, emerge che valori di pH del latte crudo troppo acidi, attorno a 5.0, producono consistenze più granulose e possono causare la formazione di muffe durante la conservazione, in particolare quando si ha un corpo pastoso in un formaggio molle o un corpo friabile in un formaggio secco. Formaggi ottenuti a partire da un latte avente pH maggiore di 5.6 sono caratterizzati da una pasta friabile e da una consistenza tipica della cagliata, probabilmente a causa della minor solubilità del calcio colloidale.²

Il pH influenza le seguenti fasi della produzione del formaggio:

- coagulazione del caglio;
- sineresi del siero del latte;
- assorbimento del sale;
- attività enzimatica;
- microstruttura e proprietà reologiche;

Di seguito verranno analizzati tali punti in maniera dettagliata.

4.1. COAGULAZIONE DEL CAGLIO

La dipendenza dal pH nella coagulazione del caglio varia a seconda del tipo degli enzimi responsabili del coagulo presenti nel latte. È consigliato pre-acidificare il latte di circa 0.1/0.2 unità di pH, al fine di ottenere una coagulazione del caglio più uniforme (figura 6), con conseguente aumento della qualità del prodotto.⁹

È possibile compiere tale operazione in due modi diversi: o tramite l'utilizzo di batteri lattici oppure con l'aggiunta di gluconolattone e una successiva pastorizzazione. Ad un valore di pH neutro, infatti, la gelificazione per aver luogo richiede una quantità di k-caseina idrolizzata maggiore dell'85%, valore che si abbassa se ci spostiamo a pH più acidi (6.0/6.3).¹⁰ Abbassare il pH comporta però un innalzamento del tempo di coagulazione del caglio, data la maggiore solidità del gel venutosi a creare: le repulsioni elettrostatiche e la solubilità del fosfato di calcio colloidale sono diminuite, inoltre la flocculazione avviene ad un minor grado di degradazione della k-caseina (figura 7). È stato tuttavia verificato che a valori di pH troppo bassi, ossia sotto a 6.0, la forza del gel diminuisce: vi è infatti un eccesso

di fosfato di calcio in soluzione, con una conseguente diminuzione del numero di legami che proteggono le micelle e un incremento nella tendenza alla riorganizzazione delle molecole di caseina, riducendo così l'attività enzimatica.¹¹

Da studi successivi è stato inoltre notato che tale fenomeno diminuisce se si applica un trattamento termico, come è stato verificato per il latte di bufala portato a 65 °C per mezz'ora mentre si abbassa il pH da 6.5 a 6.3. È stato sperimentato poi che ad un pH di 6.5 tale operazione non è adeguata se viene eseguita ad una temperatura più elevata per un tempo minore, come 95 °C per 10 minuti, mentre risulta efficace ad un pH di 6.3.¹²



Figura 6: formazione del caglio.



Figura 7: il caglio.

4.2. SINESI DEL SIERO DEL LATTE

Il pH è un parametro che influenza, oltre alla coagulazione del caglio o alla temperatura di cottura, il drenaggio del siero del latte (figura 8): esso è responsabile, infatti, dell'espulsione del siero e del contenuto di umidità, che influenza molto la qualità del prodotto finale dato che agisce sull'idratazione della caseina e sull'attività dell'acqua. È dunque possibile aumentare o diminuire la sineresi del siero andando a variare il valore del pH: essa aumenta se ci si sposta verso una maggiore acidità, grazie all'aumento del grado di riarrangiamento: aumenta la permeabilità della cagliata e la pressione dello spurgo nei confronti del siero del latte.¹³ Alcuni studi hanno dimostrato che la diminuzione del pH da 6.5 a 6.3 porta ad una riduzione dell'eliminazione del siero, a causa di una maggiore rigidità del gel venutosi a creare con la coagulazione e di una forza attrattiva più alta tra le particelle di caseina. Procedendo però con l'acidificazione e spostandosi verso valori di pH vicini a 5.2, si ha un aumento della sineresi dato che l'acido lattico provoca una solubilizzazione del fosfato di calcio colloidale, aumentando di conseguenza il grado di riarrangiamento.¹¹ La perdita di

calcio e fosfato dalle micelle ne determina il livello di rottura, con una conseguente influenza nel gusto finale. Il mancato spurgo del siero può provocare inoltre la formazione di zone più ricche in acqua nel reticolo, dove il lattosio residuo può fermentare e formare delle zone biancastre o leggermente colorate, in corrispondenza delle quali vi è una riduzione del pH.¹⁴ Anche la quantità di chimosina trattenuta nel caglio è influenzata dal pH e dal contenuto di umidità. Controllando tali parametri è possibile produrre un formaggio con una consistenza più pastosa se l'umidità è maggiore, mentre nel caso opposto si ottiene maggior durezza e compattezza.¹⁵



Figura 8: siero del latte.

4.3. ASSORBIMENTO DEL SALE

Il sale è un ingrediente essenziale e il suo assorbimento deriva dalla combinazione di più fattori, tra cui il pH, sia del caglio iniziale che della soluzione di salamoia. L'influenza del pH nell'assorbimento non è uguale in tutti i formaggi, diventando contrapposta se si confrontano formaggi dove la salatura avviene a secco e quelli dove invece si opera in salamoia. Nel primo caso infatti si ha un aumento di salinità con un incremento di pH, mentre nel secondo caso si ha una diminuzione.¹⁶ Considerando quelli dove si opera una salamoia, assorbire più sale a pH più acidi comporta una minor perdita di acqua durante il processo, a causa del maggior contenuto di acido lattico. È buona norma dunque operare ad un pH di 5.0/5.3, ai fini di evitare la precipitazione della caseina e grosse perdite di acqua dalla superficie del formaggio che ridurrebbe la quantità di sale. Nei formaggi invece dove la salatura avviene a secco, ad alti valori di pH si verifica una forza di legame maggiore tra l'umidità presente e la cagliata, comportando una minor perdita del siero data l'alta capacità di formare un

legame tra acqua e caseina: viene perso meno sale e questo viene quindi assorbito dal caglio.¹⁷

4.4. ATTIVITA' ENZIMATICA

Le reazioni che avvengono nella fase di maturazione vanno monitorate scrupolosamente, dato che sono le principali responsabili delle proprietà finali del formaggio. Il pH influenza l'attività enzimatica, che comprende le reazioni di glicolisi, proteolisi e lipolisi, le quali oltre alle caratteristiche fisiche e organolettiche determinano anche gli aspetti legati allo sviluppo della microflora e dunque alla sicurezza.

Vi è una differenziazione anche in questo caso del pH idoneo al processo di maturazione nella fase iniziale tra i formaggi duri, il cui valore si aggira su 5.3/5.5, e i formaggi di consistenza più molle e più umidi dove invece ci si sposta verso zone più basiche, attorno a 7.0/7.5.

Nella reazione di glicolisi i residui di lattosio, lattato e citrato sono metabolizzati grazie sia ai batteri lattici starter (detti SLAB), apportati dal sieroinnesto (figura 9), sia ai batteri lattici non-starter (detti NSLAB), originali del latte crudo. In queste reazioni il passaggio più importante è la produzione dell'acido lattico-L(+) a partire dal lattosio effettuato ad opera dei batteri SLAB che metabolizzano il lattosio presente in piccole quantità soprattutto nei formaggi freschi, dato che la maggior parte viene eliminato nella fase di sineresi del siero. Ciò è caratteristico per formaggi dove il pH è di circa 5.2 durante la lavorazione e la diffusione del sale nel caglio è veloce. Se la concentrazione di sale diventa troppo elevata avviene la racemizzazione da L(+)-lattato a D(-)-lattato ad opera dei NSLAB a pH tra circa 4.5 e 6.0, che porta alla formazione di cristalli: si formano dei precipitati bianchi costituiti da lattato di calcio pentaidrato, la cui formazione è facilitata a pH 5.0 o inferiore.¹⁸ Nei formaggi stagionati aventi la caratteristica muffa superficiale è presente invece un gradiente di pH dalla superficie alle zone interne, passando da circa 7.5 a 6.5: nelle zone esterne l'acido lattico è infatti catabolizzato in acqua a CO₂ e vi è la produzione di ammoniaca dalla decomposizione degli amminoacidi. L'acido lattico presente nel centro migra verso le zone esterne assieme al fosfato di calcio, il quale precipita in superficie rendendo morbido il formaggio.

Nelle reazioni di proteolisi, catalizzate dai residui di caglio, avviene la degradazione di alcune proteine e di residui peptidici. Un pH acido favorisce la ritenzione della sola chimosina, che raggiunge la sua massima efficienza ad un pH di circa 5.5; tale attività

dipende però anche dalla temperatura di cottura del caglio.¹⁹ Altri enzimi che regolano i processi di proteolisi sono le plasmine, che operano con la loro massima efficienza ad un pH di circa 7.5, o le proteinasi dell'involucro cellulare, che operano efficacemente a valori di pH tra 5.5 e 6.5 e idrolizzano le caseine in soluzione senza avere un effetto rilevante nella fase di stagionatura.

Le reazioni di lipolisi sono le principali responsabili della formazione del gusto di molti tipi di formaggio, dato che determinano la quantità degli acidi grassi liberi, responsabili dell'aroma. Gli enzimi lipolitici operano alla loro massima efficienza ad un pH tra 7.0 e 8.5, mentre le lipoproteine lipasi a 7.0, sebbene ciò dipenda molto dal tipo di formaggio. A pH elevati, gli acidi grassi sono presenti in forma anionica e sono meno volatili, conferendo il sapore saponoso tipico di formaggi come il Roquefort, in cui sono presenti in maggioranza acidi grassi a catena lunga.²⁰ Se invece vengono rilasciate grandi quantità di acidi grassi a catena corta, solitamente ad opera dell'esterasi pregastrica nel caglio, emerge un caratteristico aroma piccante, come accade nel Pecorino o nel Fiore Sardo.²¹



Figura 9: coltura di batteri lattici starter.

4.5. MICROSTRUTTURA E PROPRIETA' REOLOGICHE

Il pH influenza in maniera rilevante anche la reologia dei formaggi, ossia la loro conformazione e superficie: è responsabile infatti della microstruttura di base del prodotto finale, dato che ne determina la composizione. Abbiamo visto precedentemente come esso influisca sulle interazioni elettrostatiche, idrofobiche, legami idrogeno e legami disolfuro. A intervalli di pH diversi corrispondono dunque caratteristiche molto divergenti: a pH bassi, da 4.9 a 5.3, troviamo formaggi friabili, mentre a pH più alti come 5.3/5.6 questa caratteristica viene meno.²²



Figura 10: Feta.

Variare il pH anche di uno stesso formaggio può dunque essere molto importante per produrre varie sfumature dello stesso prodotto: si possono aumentare o diminuire l'elasticità e lo stress che produce le fratture. Ne consegue che se il pH è minore di 5, come nella Feta (figura 10), si ha una forte tendenza alla frattura in pezzi molto piccoli, con un basso stress e sforzo nella frattura.

Aumentando il pH a valori di 5.35/5.50, come nell'Emmental (figura 11), questo stress aumenta e le fratture producono pezzi più grandi, a causa della differenza di solubilità del calcio colloidale, dell'idratazione della caseina e dai legami tra le proteine. Il calcio per esempio diventa completamente solubile a pH 3.5 in soluzione acquosa: la quantità presente nel formaggio dipende dunque dal pH al quale è avvenuta la separazione tra siero e caglio.²³



Figura 11: Emmental.

Il pH influenza anche la struttura corpuscolare delle creme (figura 12), costituite da cluster di piccoli globuli di grasso ricoperti da aggregati di proteine (figura 13): la loro grandezza aumenta spostandosi a pH più alti, dove le proteine si gonfiano, si riducono le interazioni tra le proteine del siero e le caseine e aumentano le strutture β -turn. Si generano così particelle più grandi e una minor compattezza ad un pH di 5.0, mentre a 4.3, l'aumento delle interazioni idrofobiche tra le proteine comporta una contrazione e dunque una microstruttura più densa e caratterizzata da aggregati di proteine con struttura foglietto- β .²⁴ Ciò è stato notato anche mettendo a contatto queste varietà di formaggio con acidi o basi volatili: a pH maggiori si è notata una minor solidità e una maggior malleabilità, a causa dell'aumento di volume delle

proteine che circondano i grassi in conseguenza all'aumento delle interazioni tra tali proteine e l'acqua, generando un rigonfiamento e dunque la formazione di formaggi più leggeri.²⁵

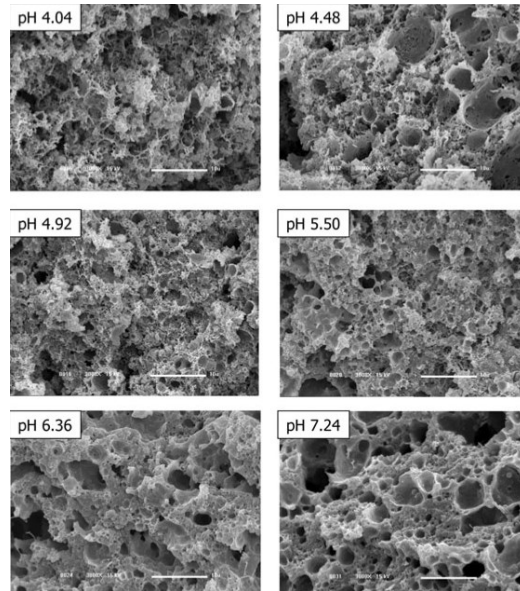


Figura 12: struttura corpuscolare delle creme al variare del pH.²⁵

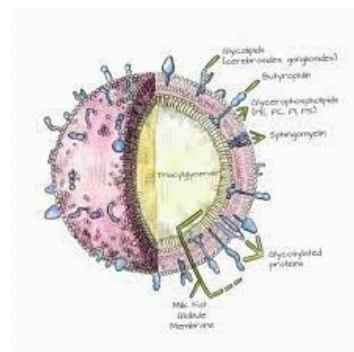


Figura 13: globulo di grasso presente nel latte.

5. CONCLUSIONI

Il processo di produzione e maturazione del formaggio è molto complesso e può durare svariati mesi come diversi anni. Per questo motivo, se si modificano anche leggermente alcuni parametri di lavorazione si può ottenere una vastissima gamma di prodotti con caratteristiche significativamente divergenti tra di loro. Uno di questi parametri è costituito dal pH, che anche con piccole variazioni è responsabile della generazione di caratteristiche fisiche e organolettiche specifiche. Esso infatti influisce in maniera determinante in molte fasi del processo di produzione, come nella coagulazione del caglio, nella sineresi del siero del latte, nell'assorbimento del sale, nella reologia e nella microstruttura del prodotto finale. Controllarlo dunque è estremamente importante, così come la misura dell'acidità del latte, che si differenzia dal pH e anch'essa va monitorata poiché può variare notevolmente. Sebbene siano due parametri concettualmente molto simili, nella pratica si possono differenziare molto ed è possibile ottenere ad uno stesso valore di pH del latte diversi valori di acidità, anche significativamente discostanti tra loro, e viceversa. Misurare tali parametri permette dunque di gestire al meglio il processo produttivo e di ottenere il prodotto desiderato per soddisfare le richieste del consumatore.

BIBLIOGRAFIA

1. Cotton, S.A. "Really cheesy chemistry". *Education in chemistry* **2011**, 48, 11–15.
2. Bansal V.; Veena N. *J. Food Sci. Technol.* **2022**, 1-8.
3. Testa, D. "Prodotti Agroalimentari Tipici". <https://slideplayer.it/slide/980942/>, accesso in rete 29/08/2023.
4. Slides del corso "Chimica degli alimenti" tenuto dalla prof. Elisabetta Schievano, Corso di Laurea Chimica Industriale, Università di Padova.
5. "Il latte crudo, indici chimico-fisici per l'analisi del latte". In *Industrie Agroalimentari*, cap. 17. Zanichelli, Seconda Edizione, pp. 233-235.
6. Dipartimento di Medicina Veterinaria e Dipartimento di Scienze Agrarie e Ambientali. Università degli Studi di Milano. "Scheda Tecnica: La misurazione dell'acidità del latte".
7. De Noni, I. "L'acidità di titolazione: significato e applicazioni". *Il latte* **2018**, 8.
8. Trmčić, A.; Ralyea, R.; Meunier-Goddik, L.; Donnelly, C.; Glass, K.; D'Amico, D.; Meredith, E.; Kehler, M.; Tranchina, N.; McCue, C.; Wiedmann, M., *J. Dairy Sci.* **2017**, 100, 841–847.
9. Fox, P.F. "Cheese: overview" In *Encyclopedia of dairy sciences*; Fuquay, J.W.; Fox, P.F.; McSweeney, P.L.H. (Ed.); Elsevier Science Publishing Co Inc.: San Diego, 2011; 524–543.
10. Dalgleish, D.G.; Corredig, M. *An. Rev. Food Sci. Technol.* **2012**, 3, 449–467.
11. Lucey, J.A. "Rennet coagulation of milk", In *Encyclopedia of dairy sciences*; McSweeney, P.L.H.; McNamara, J.P. (Eds); Elsevier: Amsterdam, 2022, 309–315.
12. Radovanovic, M.; Hovjecki, M.; Radulovic, A.; Rac, V.; Miocinovic, J.; Jovanovic, R.; Pudja, P. *Int. Dairy J.* **2021**, 121, 105-122.
13. Janhøj, T.; Qvist, K.B. "The formation of cheese curd" In *Technology of cheese making*; Law, B.A.; Tamime, A.Y. (Eds); Wiley: Oxford, 2010, 130–165.
14. Johnson, M.; Law, B.A. "The origins, development and basic operations of cheesemaking technology" In *Technology of cheese making*; Law, B.A.; Tamime, A.Y. (Eds); Wiley: Oxford, 2010, 68–97.
15. Johnson, A.; Sommer, D. *Dairy Pipeline* **2020**, 31, 1–12.
16. Fox, P.F.; Guinee, T.P.; Cogan, T.M.; McSweeney, P.L.H. "Salting of cheese curd" In *Fundamentals of cheese science*; Springer: Boston, 2017, 251–277.
17. Guinee, T.P.; Sutherland, B.J. "Salting of cheese" In *Encyclopedia of dairy sciences*; McSweeney, P.L.H.; McNamara, J.P. (Eds); Elsevier: Amsterdam, 2022, 321–335.

18. Swearingen, P.A.; Adams, D.E.; Lensmire, T.L. *J. Dairy Sci.* **2004**, *87*, 574–582.
19. Nega, A.; Moatsou, G. *Dairy Sci. Technol.* **2012**, *92*, 57–73.
20. Kilcawley, K.; O’Sullivan, M. “Cheese flavor development and sensory characteristics” In *Global cheese making technology: cheese quality and characteristics*; Papademas, P.; Bintsis, T. (Eds); Wiley: Hoboken, 2018, 45–70.
21. Gobbetti, M.; Cagno, R.D. “Extra-hard varieties” In *Encyclopedia of dairy sciences*; McSweeney, P.L.H.; McNamara, J.P. (Eds); Elsevier: Amsterdam, 2022, 172–195.
22. Fox, P.F.; Guinee, T.P.; Cogan, T.M.; McSweeney, P.L.H. *Fundamentals of cheese science*; Springer: Boston, 2017.
23. Guinee, T.P. “Cheese rheology and texture” In *Encyclopedia of dairy sciences*; McSweeney, P.L.H.; McNamara, J.P. (Eds); Elsevier, Amsterdam, 2022, 112–129.
24. Ong, L.; Pax, A.P.; Ong, A.; Vongsvivut, J.; Tobin, M.J.; Kentish, S.E.; Gras, S.L. *Food Chem.* **2020**, *332*, 127-327.
25. Monteiro, R.R.; Tavares, D.Q.; Kindstedt, P.S.; Gigante, M.L. *J. Food Sci.* **2009**, *74*, 112–117.