

# Polimorfismo delle proteine ed attitudini tecnologico-casearia del latte

**PRIMO MARIANI \***

Come abbiamo riportato a pag. 22 dello scorso numero, il 2 ottobre '98 si è svolto a Udine il 3° meeting internazionale su "Produzione del latte: contributo delle biotecnologie nel miglioramento qualitativo - Risultati della ricerca aggiornati al 1998", organizzato dalla Sezione di fisiologia veterinaria e nutrizione del Dipartimento di scienze degli alimenti della locale Università.

Per gentile concessione dell'Ente organizzatore, di seguito pubblichiamo la relazione svolta al suddetto meeting dal prof. Primo Mariani su "Polimorfismo delle proteine ed attitudine tecnologico-casearia del latte". Lo studio tratta i diversi fattori in grado di influire sull'andamento delle varie fasi della coagulazione del latte, con particolare riferimento alla caseina, vero e proprio fulcro dell'intero processo di caseificazione. (n.d.r.)

La coagulazione del latte consiste in una prima fase di natura prettamente enzimatica, contraddistinta dall'attacco della k-caseina ad opera del caglio ed una, cosiddetta secondaria, di natura prevalentemente fisico-chimica, che comprende la coagulazione propriamente detta e la conseguente sineresi del coagulo.

L'idrolisi della k-caseina ad opera della chimosina provoca una profonda alterazione del sistema micellare. Il substrato specifico di tale azione enzimatica è, infatti, la micella, che si origina dall'aggregazione di subunità costituite dalle caseine  $\alpha_{s1}$ ,  $\alpha_{s2}$ ,  $\beta$  e  $k$  con il concorso determinante del fosfato di calcio colloidale.

La k-caseina, distribuita in gran parte nello strato superficiale della micella, perde la sua porzione terminale fortemente idrofila e con essa le sue proprietà di "colloide protettore", per cui l'intero sistema micellare diventa instabile. Con il progredire dell'azione enzimatica, il potenziale elettrocinetico ed il grado di idratazione della micella si riducono sensibilmente.

Il venir meno delle forze di repulsione - fondamentali per l'integrità ed il mantenimento della stabilità del sistema nativo - e la diminuzione dello strato periferico dell'acqua di idratazione rendono possibile l'instaurarsi di legami intermicellari che provocano l'aggregazione delle micelle di para-caseina e la formazione del gel. Questa fase del processo risulta caratterizzata da numerose interazioni di natura idrofobica ed elettrostatica, che interessano le micelle in toto, le singole caseine ed in particolar modo la para-k-caseina, gli ioni calcio, ecc., con il contributo essenziale del fosfato di calcio colloidale.

Il risultato della coagulazione vera e propria è, quindi, rappresentato dalla formazione di un reticolo proteico tridimensionale a maglie molto lasse, che comprende i globuli di grasso, i batteri e tutta la cosiddetta fase "acquosa" del latte (gel).

Il reticolo caseinico è un sistema dinamico, che si modifica sotto l'influenza delle stesse forze che lo hanno originato. I legami tra le micelle di para-caseina, gli aggregati micellari e i filamenti diventano sempre più numerosi e forti, provocando la contrazione del gel e, quindi, l'espulsione dell'acqua capillare interstiziale. Da tale capacità, detta "sineresi", legata principalmente alle caratteristiche di elasticità, contrattilità e permeabilità del coagulo, dipende l'eliminazione del siero (spurgo) e, in definitiva, il grado di disidratazione della massa caseosa.

I fattori in grado di influire sull'andamento delle varie fasi della coagulazione del latte sono numerosi: qualità del latte, temperatura, enzima, trattamenti fisico-meccanici, tempi tecnici di lavorazione, ecc. Quelli inerenti la qualità del latte rivestono un ruolo molto importante e possono agire sull'una e su entrambe le fasi della coagulazione, con uguale o con diversa intensità. Uno stesso fattore, inoltre, può esercitare effetti anche contrastanti dimostrandosi favorevole in una fase e sfavorevole nell'altra.

Il pH e la dimensione delle micelle svolgono un ruolo determinante, soprattutto nello sviluppo della fase enzimatica (tab.A.1). A questo fenomeno concorrono in misura importante anche le proporzioni con cui le diverse caseine entrano nella costituzione della micella e le varianti genetiche delle stesse. Il pH condiziona anche l'avvio della fase secondaria della coagulazione, durante la quale entra in gioco il calcio ionico, che promuove e facilita l'aggregazione delle micelle di para-caseina (tab.A.1). Un terzo raggruppamento, rappresentato dal fosfato di calcio colloidale e dal caseinato di calcio, si contraddistingue per un'azione rimarchevole nei riguardi delle proprietà reologiche del coagulo: consistenza, elasticità, contrattilità e sineresi (tab.A.1).

**Tab. A.1 - Le principali proprietà fisico-chimiche e biochimiche che influenzano la fase primaria e la fase secondaria della coagulazione presamica del latte (Mariani - 1989 O.D.V.)**

Caratteristiche del latte e del sistema micellare	Fase primaria o enzimatica	Formazione coagulo e sineresi		
		Sviluppo	Consistenza	Contrazione
Proporzioni delle caseine	***	***	**	**
pH-acidità	*	*	*	*
Varianti $\beta$ - e k-caseina	**	**	*	*
Dimensione micelle	**	*	*	*
Ioni calcio		***	**	*
Fosfato colloidale		**	***	***
Concentrazione caseina		*	***	**

Nota: Gli asterischi, per grandi linee, indicano l'effetto di ciascuna caratteristica sulla coagulazione del latte.

\* Istituto di zootecnica, alimentazione e nutrizione, Università di Parma

La qualità tecnologica del latte assume significati diversi, a seconda del tipo di trasformazione, specie con riferimento alle condizioni di formazione del coagulo, al grado di acidificazione della massa caseosa sotto siero ed alla durata di stagionatura del formaggio. L'attitudine del coagulo all'eliminazione del siero assume un ruolo fondamentale nella produzione dei formaggi a pasta cotta a lungo periodo di maturazione.

La caseina costituisce la materia prima, il vero e proprio fulcro dell'intero processo di caseificazione. Le sue variazioni esercitano effetti tanto più importanti quanto più la coagulazione è di tipo presamico. In tali condizioni, infatti, il complesso micellare tende a mantenere inalterate le sue proprietà, da cui dipendono gran parte delle caratteristiche reologiche della cagliata, la capacità di contrazione della massa caseosa ed il rendimento della trasformazione.

Le variazioni qualitative influiscono primariamente sulla fase iniziale della coagulazione, di natura enzimatica, ma con riflessi notevoli anche sulla cosiddetta fase secondaria, comprendente la formazione e la sineresi del coagulo, durante la quale incidono significativamente anche le variazioni quantitative della caseina.

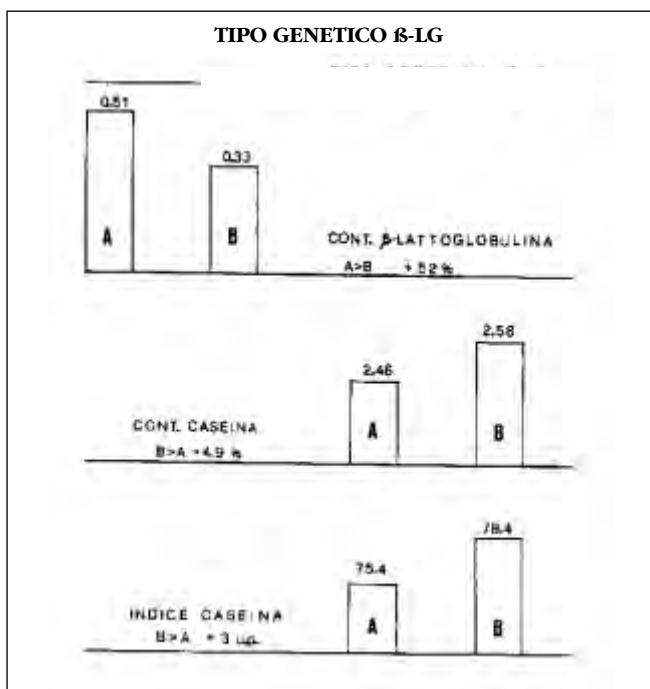
### Tipi di $\beta$ -lattoglobulina e contenuto di proteine del latte

Il polimorfismo genetico di questa albumina di sintesi mammaria è noto da più di 40 anni. I suoi due tipi più diffusi, A e B, caratterizzano per un'elevata variabilità genetica quasi tutte le razze bovine da latte di maggior interesse economico.

Di rilevante significato fisiologico è il fatto che le vacche distinte per le varianti di  $\beta$ -lattoglobulina producano quantità differenti di proteine specifiche del latte (Fig.B.1). Le vacche di tipo  $\beta$ -lattoglobulina A, infatti, danno un latte con un contenuto di  $\beta$ -lattoglobulina sensibilmente più elevato di quelle omozigoti B, mentre le vacche eterozigoti AB risultano intermedie. Il rapporto tra gli effetti dei due alleli è approssimativamente pari a 1,5.

La minore sintesi di  $\beta$ -lattoglobulina è in parte controbalanciata da una maggiore presenza di immunoglobuline, ma nel complesso i latti  $\beta$ -lattoglobulina B risultano signi-

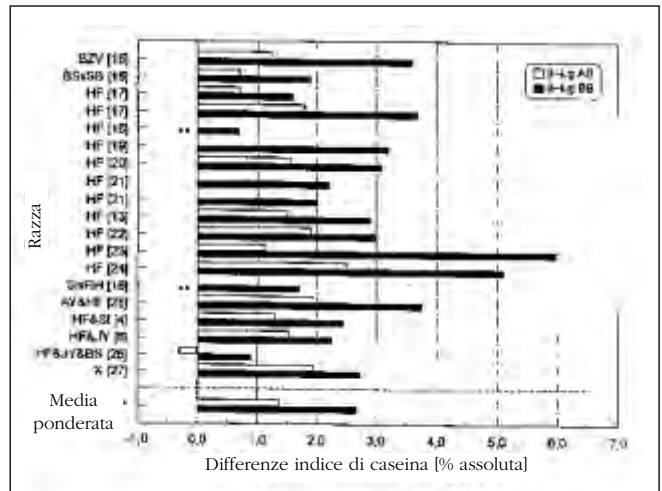
**Fig. B.1 - Tipi di  $\beta$ -lattoglobulina (82) e contenuto di caseina (11, 17, 58, 83, 86, 87) del latte (Mariani-Pecorari - 1987 S.T.L.C.)**



ficativamente più poveri di proteina del siero. Essi, al contrario, sono mediamente più ricchi di caseina, con uno scarto di +0,12 unità percentuali nei confronti dei latti A (fig.B.1).

In tal modo le vacche  $\beta$ -lattoglobulina B si contraddistinguono anche per avere un indice di caseina più elevato (fig.B.1) come dimostrano chiaramente i risultati di numerose indagini illustrati nella figura B.2, e quelle di altri autori, per cui il loro latte, a parità di proteina totale, è in grado di fornire una maggiore resa in formaggio rispetto a quello di tipo  $\beta$ -lattoglobulina A.

**Fig. B.2 - Tipi di  $\beta$ -lattoglobulina e indice di caseina del latte in vacche di diverse razze: deviazione rispetto a  $\beta$ -Lg AA (Puhan-Jakob- 1994 Bull.F.I.L.)**



\* Ponderata per il numero di vacche considerato nello studio

\*\* Differenze da  $\beta$ -Lg AB ( $\beta$ -Lg AA non disponibile)

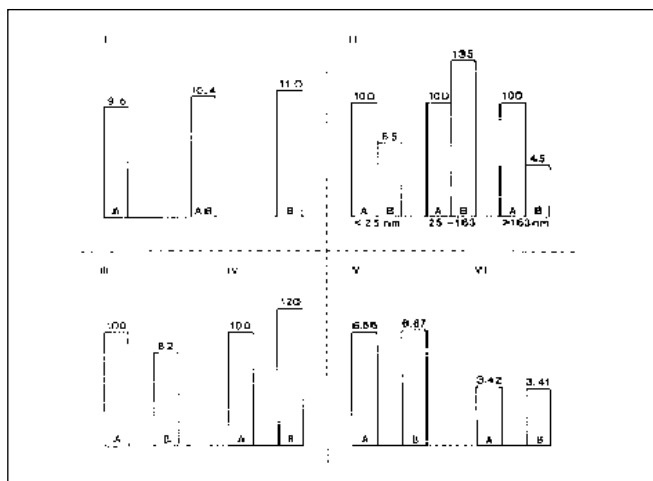
AY = Ayrshire; BS = Brown Swiss; BSxSB = Brown Swiss x Swiss Brown; BZV = Bestuzhev; HF = Holstein Friesian; JY = Jersey; SI = Simmental; StxRH = Simmental x Red Holstein; X = Razza sconosciuta

### Tipi di k-caseina, ripartizione percentuale delle caseine e dimensione delle micelle

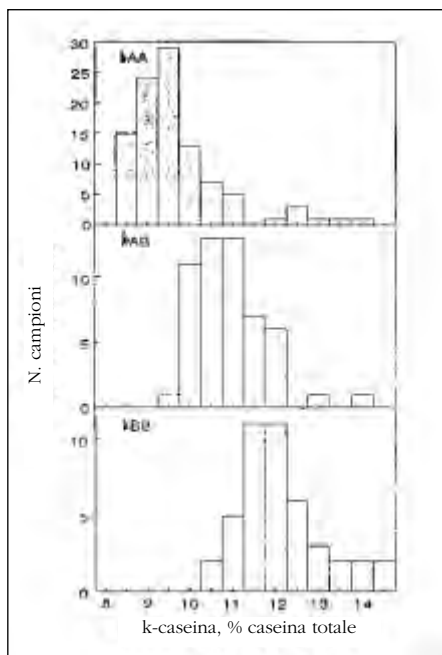
La quantità di k-caseina che entra nella costituzione della caseina totale tende a variare in rapporto al tipo genetico della proteina stessa. La caseina del latte di tipo k-caseina B contiene una maggiore proporzione di k-caseina rispetto a quella di tipo k-A. Tutte le indagini, per quanto eterogenee, tendono a fornire questa indicazione, che appare avvalorata dai risultati di almeno tre di esse sperimentalmente più rappresentative (Mariani - Pecorari, 1991 S.T.L.C.).

Dai valori medi di sei ricerche complete, tratte dalla stessa rassegna, si ricava che nella caseina del latte di tipo k-B la proporzione di k-caseina è più elevata di circa 2 unità percentuali (8,7% kA contro 10,8% kB). La caseina di tipo k-AB si colloca in posizione intermedia (9,7% di k-caseina). Per il confronto diretto tra k-B e k-A risultano maggiormente utili quattro ricerche, dalle quali si ricava una differenza di 1,5 unità percentuali di k-caseina a favore del latte k-caseina B. I valori riportati in letteratura (fig.E.1) concordano nell'attribuire al tipo k-caseina B proporzioni più elevate di k-caseina, sia nei confronti di k-caseina AB, che, soprattutto, di k-caseina A. La diversa ripartizione percentuale delle caseine in rapporto al tipo genetico della k-caseina trova conferma in ulteriori ricerche, prese in esame (da Mariani et al. S.T.L.C.) nel 1995 ed in altre di più recente pubblicazione.

**Fig. E.1 - Tipi di k-caseina, proporzioni di k-caseina (I), dimensione delle micelle (II), contenuto di acido citrico (III), rapporto calcio: acido citrico (IV), pH (V) e acidità titolabile S.H. (VI). Ref.: 63,64:38; 70; 71; 39, 40, 42, 45; 39, 45, 45'. (Mariani-Pecorari - 1991 S.T.L.C.)**



**Fig. E.2 - Tipi di k-caseina e proporzioni di k-caseina (Law et al. - 1994 Bull F.I.L.)**



Di particolare rilievo sono i dati osservati da Law et al. (fig.E.2), sia per la numerosità delle osservazioni sia per la chiara dimostrazione del fenomeno. La caseina nativa di tipo k-B, analizzata al microscopio elettronico, risulta caratterizzata da un quadro micellare più uniforme (Morini et al. 1975 S.T.L.C.). Il quadro di tipo k-caseina A è contraddistinto dalla contemporanea presenza di un

maggior numero di micelle "grandi" (2,4% kA contro 0,8% kB) e di una rilevante proporzione di submicelle (45,4% kA contro 30,0% kB). Per contro, la caseina di tipo k-B risulta più ricca di micelle di piccola e di media dimensione, soprattutto di quelle piccole o piccolissime (29,5% kA contro 43,3% kB). Alla caseina di tipo k-B corrisponde una maggiore superficie micellare complessiva, come sottolineano gli stessi autori in una successiva rielaborazione statistica del materiale. I dati illustrati, riguardanti il latte di vacche di razza Frisone, trovano conferma in quelli osservati per le razze Reggiana e Modenese, con qualche lieve variazione.

I latti k-caseina A e k-caseina B differiscono tra loro anche per altre caratteristiche; ad esempio, il contenuto di caseina e l'indice di caseina, i cui valori sono entrambi a favore del latte k-B. Differenze importanti si hanno anche per il contenuto di acido sialico della caseina (più elevato per il tipo k-B) e per il contenuto di acido citrico. Il latte k-caseina B, infatti, contiene quantità sensibilmente infe-

riori di acido citrico rispetto a quello di tipo k-A. Gli stessi latti, invece, non differiscono per quanto riguarda il contenuto dei principali elementi minerali, compreso il calcio (fig.E.1). Pertanto, il latte k-caseina B tende a caratterizzarsi per avere un rapporto calcio/acido citrico significativamente più elevato rispetto a quello di k-A, si tratta, rispettivamente, di 2,23 e 2,67 equivalenti di calcio per unità di acido citrico.

### Tipi di k-caseina e caratteristiche di coagulazione presamica del latte

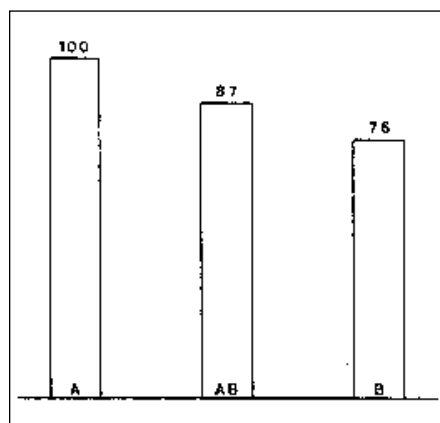
La k-caseina, come si è detto, riveste un ruolo fondamentale nella formazione della micella: per lo più distribuita nella parte superficiale, conferisce a questa particolare struttura un'elevata capacità di idratazione ed una notevole stabilità, proteggendo le frazioni  $\alpha_{s1}$ ,  $\alpha_{s2}$  e  $\beta$  dall'azione precipitante del calcio. Essa rappresenta anche il substrato specifico dell'azione della chimosina, la cui attività idrolitica innesca il processo di destabilizzazione del sistema micellare, che, attraverso reazioni fisico-chimiche, porta alla formazione del coagulo ed alla sineresi.

Le sue varianti più comuni, A e B, manifestano un diverso comportamento, sia nella fase di costruzione sia in quella di destabilizzazione della micella, in quest'ultimo caso sia con riferimento all'azione enzimatica sia nel corso del processo di riaggregazione delle micelle di para-caseina. Sono state formulate diverse ipotesi circa i possibili meccanismi che determinano il fenomeno, in grado di condizionare il comportamento dei latti caratterizzati dalle caseine k-A e k-B. Una di queste riguarda la diversa capacità di espressione dei due geni, di cui si è detto, che controllano la sintesi della proteina: la differente disponibilità di k-caseina finirebbe per condizionare la dimensione delle micelle, la quale, a sua volta, influirebbe sulla reattività enzimatica delle stesse.

Il latte k-caseina B reagisce più prontamente con il caglio, coagulando in un tempo sensibilmente inferiore rispetto a quello di tipo k-caseina A (fig. F.1). Il latte di tipo k-caseina AB manifesta un comportamento intermedio.

Questi dati trovano ampia conferma in numerose indagini di carattere sperimentale (fig. F.2). Il tipo k-caseina influenza in misura importante anche la velocità di aggregazione delle micelle di para-caseina. Il latte k-caseina B si caratterizza per un'elevata velocità di formazione del

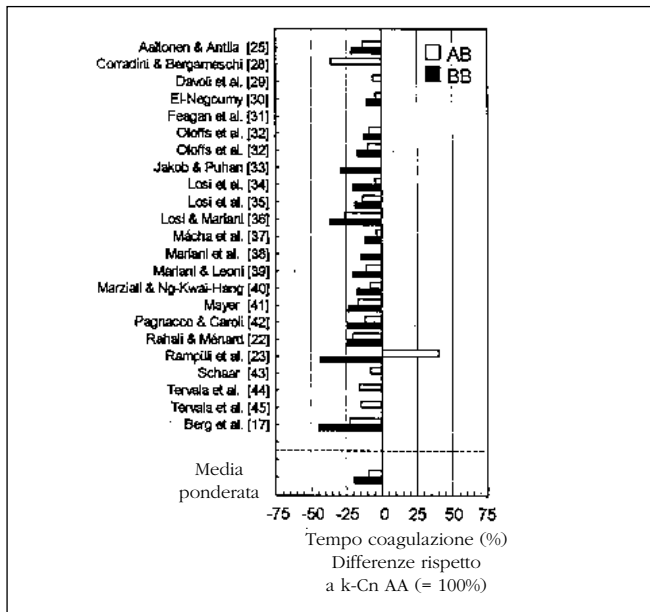
**Fig. F.1 - Tipi di k-caseina e tempo di coagulazione del latte (kA = 100). Ref.: 37, 38, 39, 39', 40', 41, 42, 43. (Mariani - Pecorari - 1991 S.T.L.C.)**



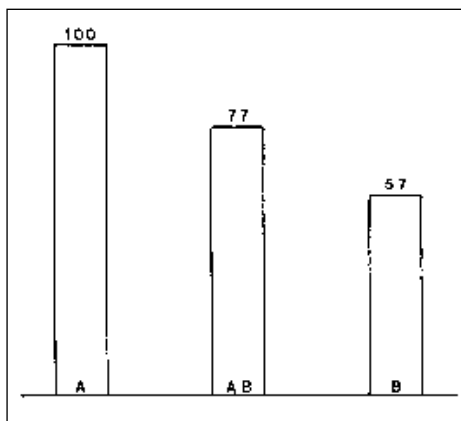
coagulo (fig. F.3). Il latte k-caseina B d'origine ad un coagulo contraddistinto da una consistenza nettamente più elevata rispetto a quella del tipo k-A (fig. F.4).

In sintesi il latte contenente k-caseina B coagula generalmente in tempi più favorevoli e di origine ad un coagulo che rassoda più velocemente, raggiungendo una consistenza molto prossima a quella ritenuta ottimale per la produzione di formaggio grana. Il latte k-caseina A, inve-

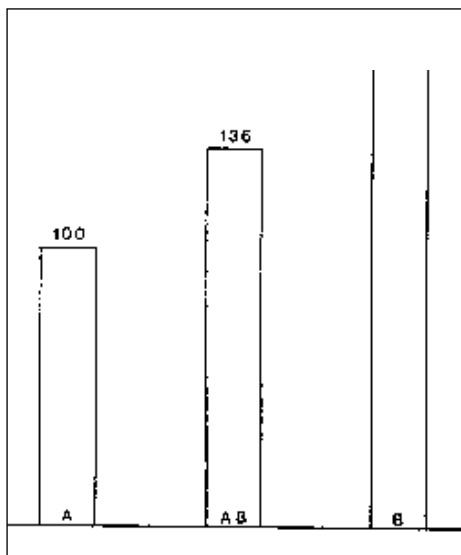
**Fig. F.2 - Tipi di k-caseina e tempo di coagulazione del latte secondo diversi autori (Puhan-Jakob - 1994 Bull F.I.L.)**



**Fig. F.3 - Tipi di k-caseina e tempo di rassodamento o velocità di formazione del coagulo (kA = 100). Ref.: 37, 38, 41, 42, 43. (Mariani - Pecorari - 1991 S.T.L.C.)**



**Fig. F.4 - Tipi di k-caseina e consistenza del coagulo (kA = 100). Ref.: 37, 38, 41, 42, 43, 60, 60'. (Mariani - Pecorari - 1991 S.T.L.C.)**



ce, tende più frequentemente a collocarsi tra quelli la cui attitudine alla coagulazione risulta meno favorevole, specie per alcune trasformazioni casearie.

Nel corso di prove di caseificazione a Parmigiano-Reggiano, le "miscele" k-caseina B tendono a coagulare in minor tempo e, soprattutto, danno origine a cagliate di maggiore consistenza e più facili da lavorare, in quanto si frantumano in granuli caseosi più uniformi, che spurgano meglio ed il cui grado di coesione porta alla formazione di masse caseose aventi migliori caratteristiche reo-

logiche. Tale comportamento trova ampia conferma nelle proprietà gelometriche e tensiometriche che i lattini manifestano prima dell'aggiunta dell'innesto: il coagulo k-caseina B risulta più elastico, dotato di un reticolo caseoso maggiormente idoneo per la sineresi; mentre il latte k-caseina A dà comunque origine a coaguli meno consistenti. La dinamica della gelificazione indica che il coagulo k-caseina B raggiunge una maggiore compattezza e manifesta una maggiore forza di retrazione, per cui appare in grado di rilasciare più facilmente e più rapidamente il siero. Analoghe osservazioni sono state effettuate in altre ricerche.

**Tipi di  $\beta$ -caseina e caratteristiche di coagulazione presamica del latte**

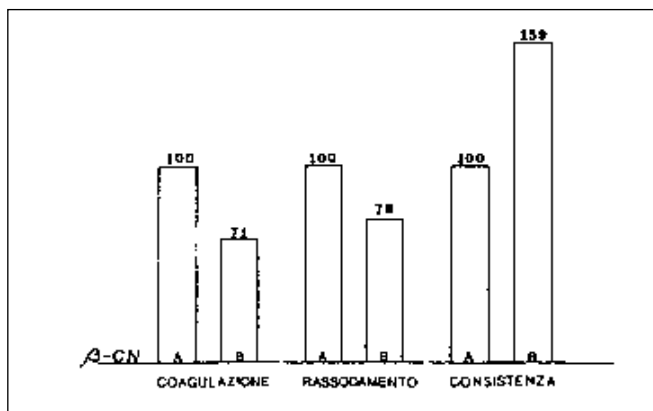
Per la  $\beta$ -caseina le osservazioni disponibili, anche se meno numerose di quelle relative alla k-caseina, mettono in chiara evidenza che, rispetto alla variante A, la  $\beta$ -caseina B ha effetti molto simili e dello stesso segno di quelli della k-caseina B: le micelle contraddistinte dalla presenza della  $\beta$ -caseina B sono, infatti più stabili, ma anche molto più sensibili all'azione della chimosina rispetto a quelle che contengono la  $\beta$ -caseina A, per cui esse tendono a coagulare in tempi più brevi ed a dare origine ad un gel più consistente.

Il latte  $\beta$ -caseina B coagula più rapidamente rispetto a quello di tipo A, con importanti riflessi soprattutto sulla velocità di formazione del coagulo ed entro certi limiti anche sulla sua consistenza valutata in rapporto ai tempi di lavorazione in caseificio. In effetti, la velocità di formazione del coagulo risulta un'importante caratteristica differenziale: il latte  $\beta$ -caseina B dà origine ad un coagulo che rassoda in un tempo significativamente inferiore rispetto a quello del latte  $\beta$ -caseina A; mentre la consistenza del coagulo, svincolata dal tempo di coagulazione, non sembra variare in misura importante.

Il diverso comportamento dei due tipi di latte non risulta in rapporto con i valori acidimetrici; ciò in particolar modo con riferimento al pH uguale per entrambi, che come noto condiziona fortemente la velocità della reazione enzimatica. Parimenti, anche i dati chimici disponibili, sebbene limitati, non forniscono elementi utili a spiegare le differenze di coagulazione. Un'indicazione importante, invece, emerge dall'analisi della caseina al microscopio elettronico. I lattini  $\beta$ -caseina A e  $\beta$ -caseina B differiscono a livello di dispersione micellare della caseina nativa. La maggiore frequenza di micelle di piccolissima dimensione presenti nel latte B potrebbe da sola spiegare il suo diverso comportamento tecnologico, specie per quanto riguarda la migliore reattività con il caglio. La maggiore prontezza con cui si forma il coagulo B può essere vista in rapporto all'andamento della reazione primaria (più veloce) ed alla carica netta negativa (minore) della caseina, due condizioni che possono influire sulla velocità di formazione degli aggregati e sulla costruzione del reticolo caseinico. L'osservazione trova anche riscontro nel fatto che a parità di tempo di coagulazione i due coaguli manifestano uguale consistenza. In effetti, la migliore attitudine alla coagulazione del latte  $\beta$ -caseina B, rispetto ad A, appare dovuta essenzialmente alla maggiore prontezza di reattività al caglio da parte di questa variante, maggiore prontezza determinata probabilmente da una più ampia superficie di reazione (micelle più piccole a parità di contenuto di caseina). Queste prime osservazioni trovano ampia conferma in indagini allargate ad un numero di coppie di lattini individuali distinti per i tipi A e B della  $\beta$ -caseina (fig. I.1).

In sintesi, i lattini distinti per le varianti A e B di  $\beta$ -caseina coagulano in tempi sensibilmente diversi. Il latte B rea-

**Fig. I.1 - Tipi di  $\beta$ -caseina, tempo di coagulazione ( $t$ ) del latte, tempo di rassodamento ( $k_{20}$ ) o velocità di formazione del coagulo e consistenza del coagulo ( $a_{30}$ ) (Mariani et al. - 1992 S.T.L.C.)**



gisce più prontamente con il caglio. Esso, nei confronti del latte A, manifesta anche migliori caratteristiche lattodinamografiche per quanto riguarda sia la velocità di formazione del coagulo che la sua consistenza. Queste osservazioni trovano ampia conferma nei risultati di numerose indagini raccolte distintamente da Puhan e Jakob nel 1994 per il tempo di coagulazione del latte (fig. I.2) e per la consistenza del coagulo (fig. I.3), nonché in altre ricerche.

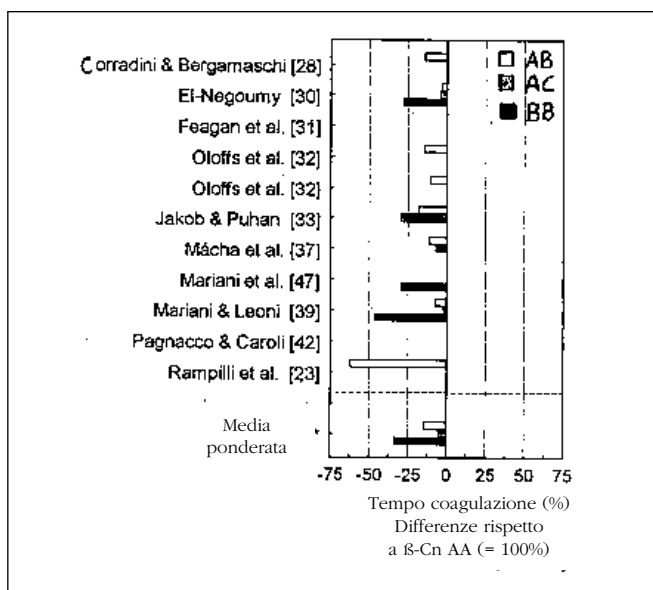
**Tipi di  $a_{s1}$ -caseina, composizione di base del latte e ripartizione percentuale delle caseine**

Tra i diversi alleli della  $a_{s1}$ -caseina, l'allele G, di recente scoperta, appare in grado di influenzare, in misura importante, alcune tra le principali caratteristiche di base del latte, soprattutto con riferimento alla composizione del sistema micellare.

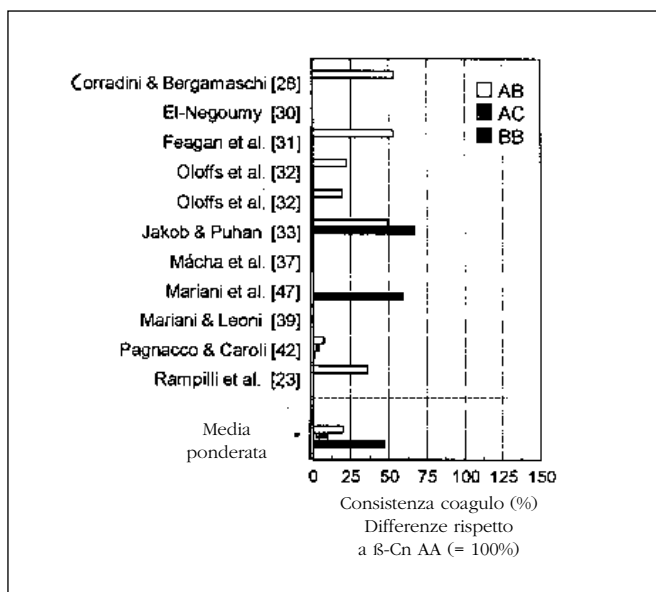
Il latte delle vacche eterozigoti per l'allele  $a_{s1}$ -Cn G contiene circa il 6% in meno di proteina vera e di caseina totale e presenta un indice di caseina leggermente inferiore rispetto a quello delle vacche di confronto. Esso, inoltre, contiene meno calcio, meno fosforo e si caratterizza per avere un'acidità titolabile sensibilmente inferiore.

Le variazioni riguardanti la caseina risultano essenzial-

**Fig. I.2 - Tipi di  $\beta$ -caseina e tempo di coagulazione del latte secondo diversi autori (Puhan-Jakob - 1994, Bull.F.I.L.)**



**Fig. I.3 - Tipi di  $\beta$ -caseina e consistenza del coagulo secondo diversi autori (Puhan-Jakob - 1994, Bull.F.I.L.)**



mente legate all'effetto quantitativo diretto di questo allele, che si manifesta attraverso una ridottissima capacità di sintesi per la caseina  $a_{s1}$ , a paragone degli alleli B e C. Ciò comporta sensibili modificazioni a livello di composizione della caseina, che interessano anche il grado di glicosilazione (più acido N-acetilneuraminico) e di fosforilazione (meno fosforo esterificato). Il latte delle vacche  $a_{s1}$ -caseina G risulta, in definitiva, meno provvisto di caseina; ciò nonostante la più favorevole struttura genetica di queste vacche a livello dei tipi di k-caseina, in quanto l'allele  $a_{s1}$ -Cn G è sempre associato con l'allele k-Cn B.

Le variazioni di maggior rilievo riguardano la ripartizione percentuale delle caseine, sia nelle vacche eterozigoti sia, soprattutto, in quelle omozigoti per l'allele  $a_{s1}$ -caseina G. La caseina delle vacche eterozigoti per l'allele  $a_{s1}$ -Cn G contiene il 25% in meno di  $a_{s1}$ -caseina (27,69% contro 36,68%). Per contro, essa risulta relativamente più ricca, in ordine decrescente, di k-caseina (15,10% contro 12,23%), di  $a_{s2}$ -caseina (13,26% contro 11,62%) e di  $\beta$ +y caseina (43,95% contro 39,47%). L'incremento di k-caseina è dovuto, sia alle frazioni minori, glicosilate (7,08% contro 5,93%), sia, soprattutto, alla frazione principale, non glicosilata (8,02% contro 6,30%).

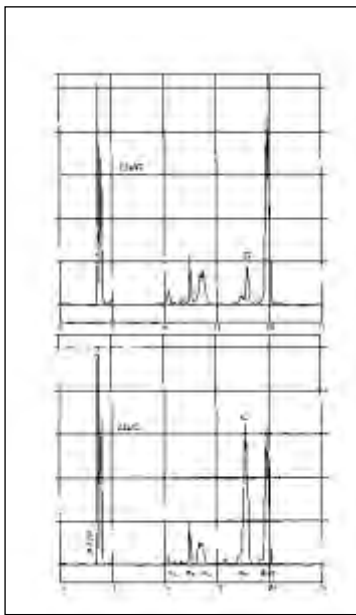
L'effetto quantitativo diretto dell'allele  $a_{s1}$ -Cn G nei riguardi della composizione della caseina trova piena conferma nelle vacche omozigoti (tab. M.1). Infatti, nel latte di queste la proporzione della proteina specifica si riduce di oltre la metà (16,05% contro 35,94%), precisamente del 55% (fig. M.1), per cui l'effetto dell'allele si raddoppia rispetto alla condizione eterozigote. La nettissima riduzione di  $a_{s1}$ -caseina comporta un aumento di  $\beta$ -caseina, ovvero di  $\beta$ +y (47,55% contro 39,32%) e soprattutto, di k-caseina (19,50% contro 12,69%), che fa registrare un incremento relativo del 54%.

I rapporti tra le frazioni caseiniche risultano modificati, sia nel tipo eterozigote, sia, in particolare, nel tipo omozigote. Nella caseina delle vacche  $a_{s1}$ -Cn GG la disponibilità di k-caseina per unità di  $a_{s1}$ -caseina risulta più che doppia (0,59 contro 0,26) rispetto a quella propria delle caseine delle vacche  $a_{s1}$ -Cn B e C. Sensibilmente più elevato risulta anche il rapporto  $\beta/a_{s1}$  (1,44 contro 0,82). I valori del rapporto  $k/a_{s1}$  subiscono le variazioni più marcate, a significare profonde modificazioni a livello dei sistemi

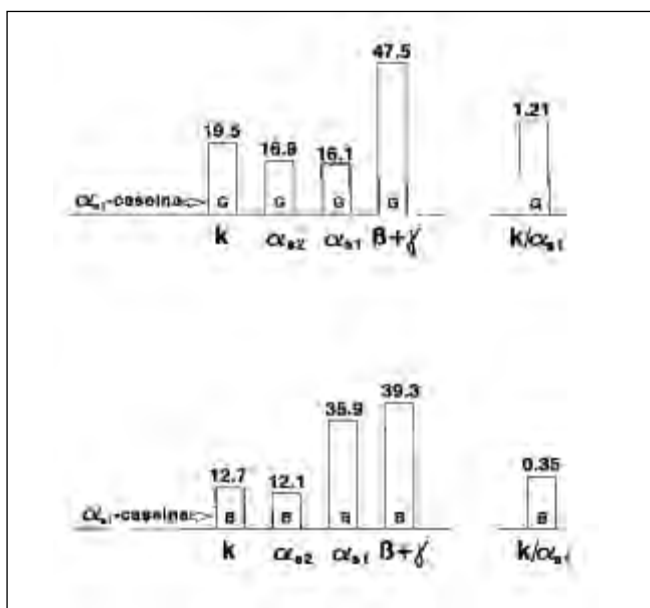
**Tab. M.1 - Tipi di  $\alpha_{s1}$ -caseina e ripartizione percentuale delle caseine (Mariani et al. - 1995 Ind. latte)**

		$\alpha_{s1}$ G	$\alpha_{s1}$ B	G - B	B = 100
k	%	19.5	12.7	+ 6,8	154
$\alpha_{s2}$	%	16.9	12.1	+ 4.8	140
$\alpha_{s1}$	%	16.1	35.9	- 19.8	45
$\beta+\gamma$	%	47.5	39.3	+ 8.2	121
k / $\alpha_{s1}$		1.21	0.35	+0.86	346

**Fig. M.1 - Profili RP-HPLC di due caseine isoelettliche:  $\alpha_{s1}$ -CnG (sopra)  $\alpha_{s1}$ -CnC (sotto). Genotipo vacca 22A/G:  $\alpha_{s1}$ -Cn GG,  $\beta$ -Cn A<sup>2</sup>A<sup>2</sup> e k-Cn BB; genotipo vacca 22A/C  $\alpha_{s1}$ -Cn CC,  $\beta$ -Cn A<sup>1</sup>A<sup>2</sup> e k-Cn BB. (Mariani et al. - 1995 Ind. latte)**



**Fig. M.2 - Tipi di  $\alpha_{s1}$ -caseina e ripartizione percentuale delle caseine,  $\alpha_{s1}$ Cn GG vs  $\alpha_{s1}$ Cn BB (Mariani et al. - 1995 Ind. latte)**



**Tipi di  $\alpha_{s1}$ -caseina e caratteristiche di coagulazione presamica del latte**

Le varianti più comuni della  $\alpha_{s1}$ -caseina, B e C, non sembrano in grado di esercitare un'influenza significativa sulle principali caratteristiche di coagulazione del latte: non si rilevano differenze circa il tempo di coagulazione; tuttavia la combinazione di tipo BC tende ad essere migliore per quanto riguarda la consistenza del coagulo (fig. N.1).

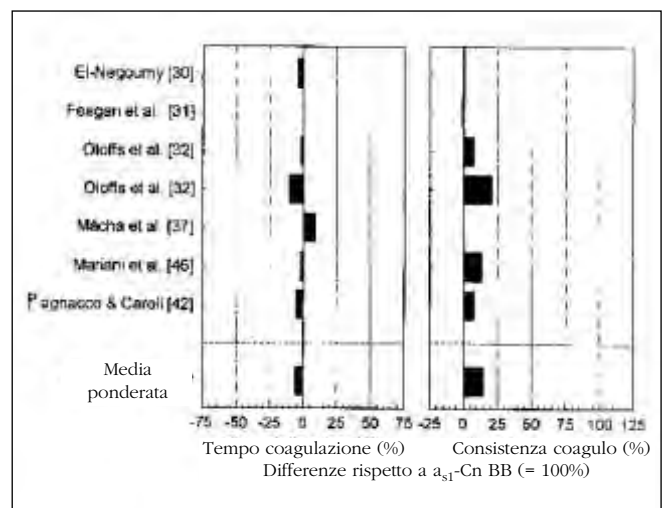
Rilevante appare, invece, il ruolo della  $\alpha_{s1}$ -caseina A, la cui presenza comporta modificazioni a livello di struttura della caseina nativa, che interessano l'idratazione, il grado di dispersione micellare e la solubilità nei confronti del calcio ionico. Variazioni da rivedere in parte alla luce di acquisizioni più recenti.

Questa variante rara conferisce al latte un diverso comportamento nel corso dei trattamenti termici e dei processi di trasformazione. Il latte che la contiene presenta un quadro micellare significativamente più eterogeneo del normale, caratterizzato da una moderata proporzione di grandi micelle accanto ad una grande proporzione di micelle di piccolissima dimensione. La sua solubilità in presenza di ioni di calcio è sensibilmente diversa da quella delle varianti B e C, tanto che il suo comportamento risulta più simile a quello della  $\beta$ -caseina. Il latte con la variante A acidifica più lentamente rispetto ai lattini contenenti le caseine  $\alpha_{s1}$ -B e/o  $\alpha_{s1}$ -C e, soprattutto, dà origine ad un coagulo soffice, pochissimo consistente inadatto per la produzione di formaggio. Viceversa, il latte  $\alpha_{s1}$ -caseina BC coagula in minor tempo e fornisce un coagulo compatto, migliore anche di quello ottenibile con il latte  $\alpha_{s1}$ -caseina B. La resistenza al taglio del coagulo  $\alpha_{s1}$ -A risulta praticamente irrilevante, mentre quella del tipo AB assume valori che a pH 5,0 e a pH 4,8 risultano rispettivamente pari a 1/6 e a meno della metà di quelli del coagulo  $\alpha_{s1}$ -BC.

Le caratteristiche differenziali della  $\alpha_{s1}$ -caseina A vengono in gran parte attribuite alla d'elezione degli amminoacidi 14-26, segmento compreso in una regione a carattere prevalentemente idrofobico, posta tra due zone idrofile.

È anche a causa di ciò che questa proteina risulta più resistente nei confronti della chimosina e della pepsina. La perdita del legame peptidico 23-24, infatti, che costituisce il primo punto di attacco enzimatico della  $\alpha_{s1}$ -caseina - da cui si origina la  $\alpha_{s1}$ -I- rende la variante A notevolmente meno sensibile delle caseine  $\alpha_{s1}$ -B e  $\alpha_{s1}$ -C alla degradazione proteolitica.

**Fig. N.1 - Tipi di  $\alpha_{s1}$ -caseina, tempo di coagulazione del latte e consistenza del coagulo: deviazione di  $\alpha_{s1}$ Cn BC rispetto al tipo  $\alpha_{s1}$ Cn BB (Puhan-Jakob - 1994 Bull F.I.L.)**



**Tab. N.1 - Tipi di  $\alpha_{s1}$ -caseina e caratteristiche di coagulazione presamica del latte: confronto tra vacche eterozigoti per l'allele  $\alpha_{s1}$ Cn G ( $\alpha_{s1}$ Cn bassa) e vacche  $\alpha_{s1}$ Cn BB, BC e CC ( $\alpha_{s1}$ Cn normale) (Mariani et al. - 1998 D.N.P.)**

	$\alpha_{s1}$ Cn bassa B (N=19) (1)	$\alpha_{s1}$ Cn normale B (N=19) (2)	B-N
pH	6,75	6,72	+0,03 NS
Acidità titolabile °SH/50	3,10	3,41	-0,31 *
Tempo coagulazione (r) min	11,4	14,6	-3,2 xxx
Tempo rassodamento (k <sub>20</sub> ) min	6,3	9,7	-3,4 xxx
Consistenza coagulo:			
- A <sub>30</sub> (3) mm	35,4	28,0	+7,4 xx
- A <sub>1/2r</sub> (4) mm	19,6	17,6	+2,0 NS
Resistenza coagulo (per n = 12):			
- compressione (5)G	30,8	26,1	+4,7 x
- taglio (5)G	57,3	47,2	+10,1 NS

(1) latti di vacche eterozigoti per  $\alpha_{s1}$ -Cn G

(2) latti con le varianti B e/o C

(3) consistenza misurata a 30 min dall'aggiunta di caglio

(4) consistenza (A) aggiustata per il tempo di coagulazione (1/2r)

(5) resistenza (gel tester) misurata a 30 min dall'inizio della coagulazione

NS, P>0,05; \* P<0,05; xx P<0,01; xxx P<0,001

Sotto questo profilo anche la variante  $\alpha_{s1}$ -caseina G appare in grado di esercitare un'influenza piuttosto marcata sulle principali proprietà di coagulazione presamica del latte.

Il latte delle vacche  $\alpha_{s1}$ -Cn bassa (B), vacche eterozigoti per allele  $\alpha_{s1}$ -Cn G, che rispetto al latte delle vacche  $\alpha_{s1}$ -Cn normale (N), risulta caratterizzato da un minor contenuto di caseina (2,37% B contro 2,51% N; P=0,05) e da una maggiore proporzione di k-caseina sulla caseina totale (14,94% B contro 12,09% N; P=0,001), manifesta un tempo di coagulazione significativamente inferiore del 22% circa rispetto a quello del latte di confronto (tab. N. 1). Ciò, nonostante esso sia contraddistinto da condizioni acidimetriche nettamente più sfavorevoli: pH più elevato e acidità titolabile molto più bassa (tab. N.1.).

Il coagulo del latte  $\alpha_{s1}$ -Cn bassa si forma più velocemente e raggiunge una maggiore consistenza finale: il tempo di rassodamento (k<sub>20</sub>) risulta del 35% circa inferiore (min 6,3 B contro 9,7 N); la consistenza misurata a 30 min dall'aggiunta del caglio (a<sub>30</sub>) risulta del 27% circa superiore (mm 35,4 B contro 28,0 N) rispetto a quella del tipo normale, nonostante il minor contenuto di caseina. Il coagulo del latte  $\alpha_{s1}$ -Cn bassa manifesta migliori caratteristiche reologiche, verosimilmente più favorevoli per la sineresi: maggiore resistenza alla compressione (g 30,8 B contro 26,1 N) e più elevata resistenza al taglio (g 57,3 B contro 47,2 N) (tab. N.1.).

Questi dati suggeriscono che l'allele  $\alpha_{s1}$ -Cn G è in grado di influenzare in misura significativa le principali caratteristiche di coagulazione presamica del latte, probabilmente in conseguenza delle modificazioni che esso determina a livello di struttura micellare della caseina nativa.