

INFLUENZA DELLE CELLULE SOMATICHE SULL'ATTITUDINE CASEARIA DEL LATTE

Sandro SANDRI^{1*}, Andrea SUMMER², Flavio TOSI¹, Maria Simona MARIANI¹, Mauro PECORARI³, Piero FRANCESCHI², Paolo FORMAGGIONI², Daniele PEDERZANI², Massimo MALACARNE².....5-18

* *Corrispondenza ed estratti:* segreteria@clcparma.it

¹ Centro Lattiero Caseario. Via Torelli 17, 43123 Parma

² Dipartimento Produzioni Animali, Biotecnologie Veterinarie, Qualità e Sicurezza degli Alimenti. Università degli Studi di Parma. Via del Taglio 10, 43126 Parma.

³ Università Cattolica del Sacro Cuore. Via Emilia Parmense 84, 29100 Piacenza.

RIASSUNTO – Nella produzione dei formaggi grana, come il Parmigiano-Reggiano, il cui processo di caseificazione consiste essenzialmente nella formazione e nella disidratazione di una cagliata lattico-presamica, il requisito basilare è rappresentato dall'attitudine precipua del latte alla coagulazione presamica. Secondo quanto indicato nel Regolamento CE 853/2004, il latte di vacca destinato alla caseificazione deve avere un contenuto di cellule ≤ 400.000 unità/mL. Nei processi infiammatori, a carico della ghiandola mammaria, si registra un aumento del contenuto di cellule somatiche del latte. Nella maggior parte dei casi, l'aumento delle cellule somatiche non riguarda il latte di tutti i quarti della mammella. Una stima affidabile degli effetti esercitati dal contenuto di cellule somatiche sulle caratteristiche del latte, quindi, deve essere condotta a livello di singolo quarto. Obiettivo della ricerca è stato confrontare i contenuti e i rapporti delle principali frazioni azotate, le caratteristiche chimico-fisiche, quelle di coagulazione presamica e le proprietà reologiche a livello di latti di singolo quarto, caratterizzati da un differente contenuto di cellule somatiche: ≤ 400.000 e >400.000 unità/mL. A tal fine sono state selezionate 10 vacche di razza Frisona Italiana in cui i due quarti omologhi (gli anteriori in 1 vacca, i posteriori in 6 vacche e sia anteriori che posteriori in 3 vacche) si caratterizzavano, uno per un contenuto di cellule somatiche ≤ 400.000 unità/mL (CB) e l'altro per un contenuto >400.000 unità/mL (CE). I quarti selezionati e il corrispondente latte non presentavano all'esame visivo le caratteristiche distintive delle mastiti cliniche. I quarti CE hanno evidenziato una produzione di latte (riferita alla mungitura della mattina) inferiore del 19% rispetto ai quarti omologhi CB. Il latte CE ha mostrato un minore contenuto di caseina ed un maggiore contenuto di sieroproteina vera, rispetto al latte CB. Il contenuto di proteoso-peptoni, sia riferito a 100g di latte che espresso in percento della caseina, è risultato significativamente più elevato nel latte CE rispetto a CB. Per quanto riguarda minerali ed equilibri salini, il latte CE, rispetto a quello CB, si è caratterizzato per un minore contenuto di fosforo e di potassio e per un maggiore contenuto di sodio e di cloruri. Ripartizione tra fase solubile e colloidale di calcio, di fosforo e di magnesio e grado di mineralizzazione della micella di caseina sono risultati non differenti tra il latte CB e quello CE. Il latte CE si è caratterizzato per valori elevati di pH e bassi di acidità titolabile, rispetto al latte CB. Il latte CE ha evidenziato un netto peggioramento delle caratteristiche di coagulazione presamica rispetto al latte CB: aumento del tempo di coagulazione (+ 29 %) e del tempo di rassodamento del coagulo (+ 101 %) e diminuzione della consistenza del coagulo (- 24 %). Anche i valori del coagulo, di resistenza alla compressione e di resistenza al taglio, sono risultati significativamente più bassi e quindi peggiori, nel latte CE rispetto a quello CB: - 27 % e - 47 %, rispettivamente. Il latte di singolo quarto caratterizzato da un valore di cellule somatiche superiore al limite previsto per il latte destinato alla caseificazione (400.000 cell/mL) ha evidenziato un'attitudine alla coagulazione presamica tale da renderlo poco adatto alla trasformazione casearia, con particolare riferimento alla produzione di formaggi tipo grana.

Parole chiave: latte di vacca, latte di quarto, frazioni proteiche, contenuto minerali, equilibri salini, attitudine alla coagulazione presamica

SUMMARY – *Influence of somatic cell content on dairy aptitude of milk.* – The production of grana cheeses consists essentially in the formation and subsequent dehydration of a rennet-acid curd. Rennet coagulation aptitude represents the basic requirement of milk in grana cheesemaking. The somatic cell content of cow's milk used for cheesemaking had to be $\leq 400,000$ cells/mL. Aim of the research was to compare content and relations among nitrogen fractions, rennet coagulation characteristics and rheological properties between quarter milk samples with different somatic cell content: $\leq 400,000$ and $>400,000$ cells/mL. To this end, 10 Italian Friesian cows, in which two homologous quarters (front quarters in 1 cow, rear quarters in 6 cows and both rear and front quarters in 3 cows) were characterised by a milk $SCC \leq 400,000$ cells/mL (CB milk) and milk $SCC > 400,000$ cells/mL (CE milk), respectively, were selected. The quarters selected and the correspondent milks showed no signs of clinical mastitis. CE milk was characterised by a lower content of casein and a higher content of true wheyprotein than CB milk. The value of the casein number, consequently, was lower in CE than CB milk. The content of proteose peptone – on 100 g of milk and on 100 g of casein – was clearly higher in milk CE than CB. The increase of proteose peptone was due to the increase of the proteolytic activity of the endogenous alkaline protease of milk – plasmin – towards b-casein. Compared to CB milk, CE milk

was characterised by a lower content of phosphorus and potassium and by a higher content of both sodium and chloride. The equilibrium of calcium, phosphorus and magnesium between the colloidal and soluble phases of milk and the mineralisation degree of the casein micelles, were not different between CE and CB milk. Compared to CB milk, CE milk was characterised by a clear worsening of rennet coagulation parameters: increased clotting time (+ 29 %) and curd firming time (+ 101 %), lower curd firmness measured 30 minutes after rennet addition (– 24 %). The values of rheological parameters of the curd, *e.g.* resistance to compression and resistance to cut, resulted lower in CE milk than CB: – 27 % and – 47 %, respectively. Quarter milk samples exceeding the somatic cell count threshold for milk destined to cheesemaking, evidenced a scarce aptitude to rennet coagulation and, in general, it seems not suitable to cheesemaking production, with particular reference to grana cheese production.

Keywords: cow's milk, somatic cell, quarter milk, protein fractions, mineral content, salt equilibria, rennet-coagulation aptitude

Sandri *et al* (2010) *Sci Tecn Latt-Cas*, 61 (1), 5-18

EFFETTO DEL TRATTAMENTO TERMICO SULLE SOSTANZE NUTRACEUTICHE DEL LATTE

Vita Maria MARINO¹, Stefania LA TERRA¹, Giuseppe LICITRA^{1, 2}, Stefania CARPINO^{1*}....19-27

* *Corrispondenza ed estratti*: tel. +39 0932 660418; fax +39 0932 660448; carpino@corfilac.it

¹ CoRFiLaC, Regione Siciliana. SP 25 km 5 Ragusa Mare, 97100 Ragusa.

² DACPA, Università di Catania. Via Valdisavoia 5, 95123 Catania.

RIASSUNTO – Alcune componenti del latte sono considerate molecole nutraceutiche perché oltre al loro valore nutrizionale apportano beneficio alla salute umana. Tuttavia, alcune di esse, come la vitamina E ed il CLA (acido linoleico coniugato), sono sensibili al calore, pertanto, la loro concentrazione potrebbe essere influenzata dalla pastorizzazione a cui è sottoposto il latte per la commercializzazione. Lo scopo del presente lavoro è stato quello di determinare la concentrazione di alfa- e gamma-tocoferolo (vitamina E), degli acidi grassi polinsaturi e degli isomeri del CLA nel latte dopo essere stato trattato termicamente, combinando la temperatura di 73°C con tempi brevi (13,75 sec, 30 sec) e con tempi lunghi (5min, 10min, 15min). Le varie combinazioni di temperatura e tempo nel trattamento termico non hanno determinato alcun cambiamento significativo sulla concentrazione rispettivamente degli isomeri alfa- e gammatocoferolo, confermando la maggiore stabilità al calore delle vitamine liposolubili del latte. Inoltre, non sono state osservate variazioni significative nel contenuto degli acidi grassi polinsaturi. Tuttavia, riguardo il CLA è stato osservato un incremento degli isomeri *trans/trans*, in particolare dell'isomero *trans/trans* 18:2 $\Delta^{-9,t11}$ nei latti trattati rispetto al controllo. L'isomero 18:2 $\Delta^{-t8,c10}$, comparso solo nei campioni di latte riscaldato, potrebbe essere proposto come marcatore dell'avvenuto trattamento termico.

Parole chiave: trattamento termico, latte, isomeri del CLA, vitamina E

SUMMARY – *Effect of different heating treatments on milk nutraceutic substances.* – Some milk's components are considered nutraceutical molecules, besides their nutritional value they also have a beneficial effect on human health. However, vitamin E and polyunsaturated fatty acids (PUFA) are heat-sensitive and therefore, their concentrations could be affected by milk pasteurization. The aim of this work was to determine the concentration of alfa- and gamma-tocopherol (vitamin E), of PUFA and in particular of CLA (Conjugated Linoleic Acid) isomers in milk, after thermal treatment at 73°C for a short time (13,75sec, 30sec) and for a long time (5min, 10min, 15min). In our experiment, all temperature and time combinations led to no significant change in the concentrations of both alfa- and gamma-tocopherol, confirming the major stability to heat of milk's liposoluble vitamins. Moreover, PUFA were unaffected by thermal treatment. However, it has been observed a slight increase in the concentration of *trans/trans* isomers of total CLA, in particular of isomer 18:2 $\Delta^{-t9,t11}$. The presence of isomer 18:2 $\Delta^{-t8,c10}$ only in treated milk samples has been observed, thus we propose this as a marker of heat treatment.

Keywords: thermal treatment, milk, CLA isomers, vitamin E

OSSERVAZIONI SULL'ANDAMENTO DELLE PRINCIPALI CARATTERISTICHE CASEARIE DEL LATTE PER PARMIGIANO-REGGIANO DAL 2004 AL 2008

Gianfranco TEDESCHI¹, Massimo MALACARNE², Flavio TOSI^{1*}, Sandro SANDRI¹, Cristina SCOTTI¹.....29-45

* *Corrispondenza ed estratti:* f.tosi@clcparma.it

¹ Centro Lattiero Caseario. Via Torelli 17, 43123 Parma.

² Dipartimento di Produzioni Animali, Biotecnologie Veterinarie, Qualità e Sicurezza degli Alimenti. Università degli Studi. Via del Taglio 10, 43126 Parma.

RIASSUNTO – L'obiettivo della ricerca è stato di analizzare le variazioni annuali e stagionali di alcuni parametri di interesse caseario in campioni di latte allevamento prelevati in stalle del comprensorio di produzione del formaggio Parmigiano-Reggiano. I campioni sono stati raccolti in un periodo di 5 anni (dal 2004 al 2008). Le stalle oggetto della ricerca sono passate da 974 nel 2004 a 827 nel 2008. Presso ciascuna stalla, sono stati raccolti, con cadenza mensile, due campioni di latte: uno in corrispondenza della mungitura della mattina e uno in corrispondenza della mungitura della sera. L'andamento annuale dei parametri analizzati ha permesso di evidenziare un significativo ($P < 0,05$) e continuo calo dei valori dell'acidità titolabile (da 3,27 °SH/50mL nel 2004 a 3,13 °SH/50mL nel 2008) ed una diminuzione dei tipi lattodinamografici favorevoli alla trasformazione in Parmigiano-Reggiano. Infatti, i tipi favorevoli (A, AE, EA) sono passati da un valore del 38,4 % nel 2004 ad un valore pari a 21,6 % nel 2008. Il contenuto di proteina ha evidenziato un significativo ($P < 0,05$) incremento nel corso dei cinque anni, passando da un valore di 3,21 g/100g nel 2004 ad un valore di 3,27 g/100g nel 2008. Gli altri parametri considerati – grasso, cellule somatiche, carica batterica totale, presenza di spore butirriche – non hanno mostrato variazioni importanti nel corso dei 5 anni. In particolare, i campioni di latte che hanno mostrato un valore di cellule somatiche superiore alle 400.000 unità/mL è risultato pari al 36 % circa; i campioni che hanno evidenziato un valore di carica batterica superiore alle 300.000 UFC/mL è risultato pari a 8 % circa. Gli andamenti stagionali hanno messo in evidenza un tendenziale peggioramento di tutte le caratteristiche tecnologico-casearie del latte – minore proteina, minore acidità titolabile, meno grasso e minore frequenza dei tipi lattodinamografici ottimali; maggiore contenuto di cellule somatiche e più elevata conta batterica – nel corso della stagione estiva. La presenza di spore butirriche, invece, ha evidenziato un tendenziale peggioramento nel corso dell'autunno.

Parole chiave: latte di stalla, variazioni annuali, variazioni stagionali, coagulazione presamica, acidità titolabile, proteina, grasso, cellule somatiche, carica batterica, spore butirriche, Parmigiano-Reggiano

SUMMARY – *Trends of the main dairy characteristics of milk for Parmigiano-Reggiano cheesemaking from 2004 to 2008.* – The aim of this research was to study yearly and seasonal variations of the main dairy characteristics of herd milk collected in Parmigiano-Reggiano cheese production area. Milk samples were collected throughout a 5-year period, from 2004 to 2008. The herds involved passed from 974 to 827 in 2004 and in 2008, respectively. In each herd, two milk samples were collected monthly, in correspondence of the evening and morning milking, respectively. Yearly trends of the parameters analyzed evidenced a continuous and significant decrease of both milk titratable acidity (from 3.27 °SH/50mL in 2004 to 3.13 °SH/50mL in 2008) and lactodynamographic (LDG) profiles characterised by an optimal aptitude to cheesemaking (from 38.4 % in 2004 to 21.6 % in 2008). The content of protein increased from 3.21 to 3.27 g/100g in 2004 and in 2008, respectively. Other parameters – content of fat and somatic cell, total bacterial count, presence of butyric spore – did not showed important variation throughout 5 years period. In each year considered, milk samples exceeding 400,000 cells/mL were about 36% and those exceeding a bacterial count of 300,000 CFU/mL were about 8%. Seasonal trends evidenced a general worsening – decrease of titratable acidity, protein, fat and optimal LDG profiles; increase of somatic cell and total bacterial count – of milk aptitude to cheesemaking during summer season. On the other hand, the presence of butyric spore increased in autumn.

Keywords: herd milk, annual variations, seasonal variations, rennet-coagulation aptitude, titratable acidity, protein, fat, somatic cells, total bacterial count, butyric spore, Parmigiano-Reggiano cheese

ANALISI *IN SILICO* DI CASEINOFOSFOPEPTIDI (CFP) NEI RUMINANTI

Stefania CHESSA^{1*}, Omar BULGARI², Daniela RIGNANESE², Gabriella CERIOTTI³, Giovanni TULIPANO², Anna Maria CAROLI².....47-56

*Corrispondenza ed estratti: chessa@ibba.cnr.it

¹ Istituto di Biologia e Biotecnologia Agraria, CNR. Via Bassini 15, 20133 Milano.

² Dipartimento di Scienze Biomediche e Biotecnologie, Università degli Studi. Viale Europa 11, 25123 Brescia.

³ Dipartimento di Scienze e Tecnologie Veterinarie per la Sicurezza Alimentare, Università degli Studi. Via Trentacoste 2, 20134 Milano.

RIASSUNTO – Le proteine del latte sono la fonte principale di peptidi bioattivi con differenti funzioni. In base agli effetti indotti nell'organismo, i biopeptidi possono essere classificati in: oppioidi agonisti, oppioidi antagonisti, antipertensivi, antitrombotici, immunomodulatori, antimicrobici e trasportatori di minerali. Questi ultimi peptidi, chiamati caseinofosfopeptidi (CFP), possiedono la capacità di legare e solubilizzare minerali come Ca²⁺. Gli studi sugli effetti biologici dei diversi CFP sono stati compiuti principalmente nella specie bovina senza considerare il polimorfismo genetico delle lattoproteine. L'attività biologica dei peptidi, rilasciati dalla digestione delle proteine del latte, può essere influenzata sia da scambi amminoacidi e delezioni derivanti da mutazioni genetiche che da modificazioni post-traduzionali. L'obiettivo di questo lavoro è stato quello di effettuare un'analisi *in silico* dei CFP, al fine di rilevare le differenze nella sequenza amminoacidica tra le specie bovina, caprina e ovina e tra le varianti genetiche nell'ambito di ogni specie. Sono stati considerati 3, 2, e 3 CFP derivanti rispettivamente da alfaS1-caseina (CSN1S1), beta-caseina (CSN2) e alfaS2-caseina (CSN1S2). Dal confronto delle sequenze sono state individuate 30 differenze tra le 3 specie e le 52 varianti genetiche considerate in base alla letteratura. Le differenze osservate coinvolgono scambi o delezioni di amminoacidi e la presenza di serine non fosforilate. Tra gli alleli più interessanti vanno segnalati CSN1S1*F (*Capra hircus*; delezione del CFP 59-78); CSN2*C (*Bos taurus*; perdita di una serina fosforilata nel CFP 29-41); CSN1S2*B (*Bos taurus*; perdita di una serina fosforilata nel CFP 1-21).

Parole chiave: caseine, caseinofosfopeptidi, nutrizione umana, polimorfismo genetico

SUMMARY – *In silico analysis of caseinophosphopeptides in ruminants.* – Milk proteins are the main source of bioactive peptides with different functions. These milk activities are hidden in the native proteins and require the proteolytic cleavage to become extrinsic. The biopeptides generated from milk protein digestion show a wide range of activities. On the basis of the effects induced in the organism, biopeptides can be classified in the following categories: opioid-agonist, opioid-antagonist, antihypertensive, antithrombotic, immunomodulatory, antimicrobial, and mineral carrier peptides. These last peptides, also called caseinophosphopeptides (CPPs), possess the ability to bind and solubilise minerals, such as Ca²⁺. Consumption of high concentrations of Ca²⁺ in early life contributes to the development of maximal bone density, which in turn can prevent osteoporosis in later life. Furthermore, a positive correlation was found between Ca²⁺ intake and the prevention of hypertension. The high bioavailability of Ca²⁺ from milk and dairy products has, in part, been attributed to the production of CPPs with different levels of phosphorylation. The studies on the biological effect of different CPPs were carried out mainly in the bovine species, without taking genetic polymorphism into account. The biological activity of peptides released from milk protein digestion may be affected by aminoacid exchanges or deletions resulting from gene mutations, as well as by post-translational changes. The aim of this work was to carry out an *in silico* analysis of the CPPs in order to detect differences in the aminoacid sequence among species (bovine, caprine, and ovine) and the genetic variants within each species. We analysed 3, 2, and 3 CPPs respectively carried by alphaS1-casein (CSN1S1), beta-casein (CSN2), and alphaS2-casein (CSN1S2). The biological effects of these peptides, or fragments of them, are known from literature. A total of 30 differences were detected when comparing the bovine, caprine, and ovine species as well as the genetic variants within each species. Among the most interesting variations we can focus on: i. the deletion of peptide 59-78 in the goat CSN1S1*F variant, which is rather common in most caprine breeds; ii. the lost of a phosphorylated serine within peptide 29-41 in the bovine CSN2*C variant, which is the fourth beta-casein variant, in order of frequency, in cattle; iii. the lost of a phosphorylated serine within peptide 1-21 in the bovine CSN1S2*B variant, mainly spread in *Bos indicus* but also found in some *Bos taurus* breeds

Keywords: casein, caseinophosphopeptides, human nutrition, genetic polymorphism