

UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI PADOVA

Dipartimento di Agronomia, Animali, Alimenti, Risorse naturali e Ambiente

**CORSO DI LAUREA MAGISTRALE IN
SCIENZE E TECNOLOGIE ALIMENTARI**

GELATO FIORDILATTE CON CASEINA A2A2: CARATTERISTICHE BIOCHIMICHE, SENSORIALI E STRUTTURALI

Relatrice:

Prof.ssa Giovanna Lomolino

Laureando:

Claudio Agatino Cinardi

Matricola n. 2058753

ANNO ACCADEMICO 2023-2024

RIASSUNTO

Negli ultimi anni si assiste ad una nuova tendenza ed interesse da parte dei consumatori verso prodotti con alti standard di qualità legati alla freschezza, alla fragranza, agli aspetti nutrizionali, all'assenza o all'uso limitato di additivi senza trascurare il prezzo e il rispetto per l'ambiente. Anche la produzione di gelato segue questa tendenza; infatti, esso deve essere "salutare", "naturale", senza perdere il suo carattere edonico che lo contraddistingue.

Attraverso le nuove tecnologie è nata la produzione di gelato con latte A2A2, una nuova tipologia di gelato con caratteristiche differenti rispetto a quello tradizionale. Il metodo di produzione rimane invariato, ma varia la matrice fondamentale: il latte. Per questa tipologia di produzione viene utilizzato il latte di Jersey, una razza bovina di origine inglese. Questa razza possiede un'estrema capacità di adattamento a diverse tipologie di climi ed allevamenti. La differenza sostanziale tra il latte con caseina A2 e quello con caseina A1 sta nella forma genetica, e riguarda una singola mutazione amminoacidica, in posizione 67 della catena polipeptidica, che porta alla presenza di un'istidina (His67) nella β -CN A1 (β -caseina) e una prolina (Pro67) nella β -caseina A2 del latte. Si pensa che questa mutazione sia comparsa 5.000-10.000 anni fa in alcuni allevamenti europei (EFSA).

In questa tesi sono stati effettuati degli studi in laboratorio sulle caratteristiche biochimiche, strutturali e sensoriali del Latte A2A2 ottenuto da razza Jersey finalizzato alla produzione di gelato e sulla differenza rispetto l'utilizzo del latte di Frisona con caseina A2A1.

Attraverso analisi reologiche, elettroforetiche e biochimiche le caratteristiche evidenziate riguardano una differenza nella composizione percentuale e strutturale dei diversi macronutrienti all'interno delle due tipologie di latte, in particolare grassi e proteine, che conferiscono caratteristiche radicalmente diverse nel prodotto finale.

È stato inoltre valutato il profilo sensoriale del prodotto finale attraverso dei panel e dei consumer test, in cui si è evidenziato un diverso livello di percezione di alcuni descrittori e differenti livelli di preferenza dei due prodotti.

ABSTRACT

In recent years there has been a new trend and interest on the part of consumers towards products with high quality standards linked to freshness, fragrance, nutritional aspects, the absence or limited use of additives without neglecting the price and respect for the environment. Even the production of ice cream follows this trend; in fact, it must be "healthy", "natural", without losing its hedonic character that distinguishes it.

Through new technologies, the production of ice cream with A2A2 milk was born, a new type of ice cream with different characteristics compared to the traditional one. The production method remains unchanged, but the fundamental matrix varies: milk. For this type of production, Jersey milk is used, a bovine breed of English origin. This breed has an extreme ability to adapt to different types of climates and farms. The substantial difference between Jersey and Friesian milk lies in the genetic form, and concerns a single amino acid mutation, in position 67 of the polypeptide chain, which leads to the presence of a histidine (His67) in β -CN A1 (β -casein) and a proline (Pro67) in milk β -casein A2. This mutation is thought to have appeared 5,000-10,000 years ago in some European herds (EFSA).

In this thesis, laboratory studies were carried out on the biochemical, structural and sensorial characteristics of A2A2 milk aimed at the production of ice cream and on the difference compared to the use of Friesian milk. Through rheological, electrophoretic and biochemical analyses, the characteristics mainly highlighted concern a difference in the percentage and structural composition of the different macronutrients within the two types of milk, in particular fats and proteins, which give radically different characteristics to the final product.

The sensorial profile of the final product was also evaluated through panels and consumer tests, which highlighted a different level of perception of some descriptors and different levels of preference for the two products.

Sommario

| | |
|---|----|
| 1. Introduzione | 7 |
| 1.1 La storia del gelato | 7 |
| 1.2 Cos'è il gelato?..... | 9 |
| 1.3. Composizione del gelato..... | 10 |
| 1.3.1 Acqua potabile | 10 |
| 1.3.2 Bolle d'aria | 10 |
| 1.3.3 Stabilizzanti | 10 |
| 1.3.4 Zuccheri..... | 12 |
| 1.3.5. Latte..... | 13 |
| 1.4. La β -caseina A2..... | 18 |
| 1.4.1. Rilascio di beta-casomorfina-7 | 19 |
| 1.4.2. Caratteristiche degli oppioidi delle casomorfine del latte | 21 |
| 1.4.3. BCM 7 e lattosio | 23 |
| 1.4.4. Produzione di la | 25 |
| 1.4.5. β -caseina A2, proprietà fisico-chimiche e aspetti tecnologici | 26 |
| 1.4.6. Il latte A2 nel mercato mondiale..... | 29 |
| 2.Obiettivi | 31 |
| 3.Materiali e Metodi | 32 |
| 3.1 Preparazione del campione | 32 |
| 3.2 Formulazione del gelato..... | 35 |
| 3.3 Analisi d'immagine | 35 |
| 3.4. Analisi colorimetrica | 36 |
| 3.5 Reologia liquida | 36 |
| 3.6 SDS PAGE | 38 |
| 3.7 Reologia solida..... | 38 |
| 3.8 Melting test..... | 40 |
| 3.9 Analisi sensoriale..... | 42 |
| 3.9.1 Analisi statistica | 43 |
| 4.Risultati e discussione | 44 |
| 4.1 Analisi generale latte | 44 |
| 4.1.2. Proteine..... | 47 |
| 4.1.3. Globuli di grasso | 50 |
| 4.1.4 Analisi del colore | 52 |
| 4.1.5 Comportamento reologico del latte e dei mixer..... | 54 |

| | |
|---------------------------------------|-----------|
| 4.1.6 Modulo viscoelastico..... | 55 |
| 4.2 Analisi reologica del gelato..... | 56 |
| 4.3 Melting Test | 58 |
| 4.4 Analisi sensoriale..... | 59 |
| 5. Conclusioni | 63 |
| 6.Bibliografia | 64 |

1. Introduzione

1.1 La storia del gelato

Il gelato è classificato come un dolce a base di latte e si può considerare come il dessert più popolare al mondo. Date le sue origini antichissime, il gelato subì moltissime trasformazioni e processi nel corso del tempo, fino ad arrivare negli ultimi anni alle molteplici tipologie di dessert facilmente reperibili nei punti vendita e supermercati. Non si sa quando nacque il gelato; infatti, vi sono molteplici testimonianze storiche di differenti popoli che utilizzavano il congelamento come metodo di conservazione. L'abitudine di congelare la frutta ed il latte al fine della conservazione risale principalmente ad antiche tradizioni delle culture asiatiche, dove intorno al 2000 a.C., in Cina, era comune preparare un composto a base di latte e riso cotto con delle spezie, che veniva riposto sulla neve per solidificarsi. Le prime leggende risalenti alla storia del gelato sono presenti addirittura nei testi sacri, dove Isacco offriva in dono al padre Abramo una bevanda ghiacciata a base di latte di capra e neve come rimedio contro il caldo.

La storia, attraverso le sue leggende, prosegue con l'antica usanza romana, dove Nerone porgeva ai propri ospiti, nei suoi banchetti, dei dolci a base di macedonia di frutta, neve e miele durante le stagioni calde. I primi documenti storici ufficiali all'interno dei quali viene menzionato per la prima volta il gelato risalgono invece al 500 a.C., dove gli ateniesi erano soliti realizzare delle bevande rinfrescanti aromatizzate con miele, limone e melograno mescolati a neve o ghiaccio.

Per quanto riguarda il panorama italiano, le prime testimonianze sul gelato artigianale risalgono al IX secolo ed iniziano proprio in Sicilia grazie alla dominazione araba avvenuta nel nostro territorio. Questi popoli erano infatti soliti gustare delle bevande fredde chiamate *sherbet*, caratterizzate da succhi di frutta a base di agrumi, ciliegie e melograno. Gli arabi della Sicilia usano la neve proveniente dall'Etna per raffreddare fino al punto di congelamento queste bevande nei recipienti, che poi venivano addolcite tramite l'utilizzo di canna da zucchero pregiata importata dalla Persia.

Bisogna aspettare il 1500 per assistere all'affermazione di questo alimento, dove nell'epoca rinascimentale, alla corte di Caterina De' Medici a Firenze, l'architetto Bernardo Buontalenti, nel 1565, rivendicò l'invenzione del gelato, il dolce italiano più famoso al mondo. Nella ricetta dei suoi antichi sorbetti gelati erano presenti gli ingredienti attualmente utilizzati, quali latte, panna, albume d'uovo, neve, sale, zucchero e limone.

Circa un secolo più tardi vi fu un altro importante avvenimento riguardante la storia del gelato. Era il 1686, quando un cuoco siciliano di nome Francesco Procopio dei Coltelli diede origine alla prima vera miscela perfetta per la produzione e confezionamento del gelato artigianale. Il noto cuoco italiano si trasferì nel contesto parigino, dove nella corte del re Sole, aprì la prima caffè-gelateria in grado di diffondere la “moda del gelato” in tutta l’Europa. L’attività prese il nome di “ Café Procope” ed è ancora al giorno d’oggi in attività.



(Café Procope, 1686)

Per la produzione del gelato, Procopio inventò un curioso sistema innovativo consistente nell’immissione del liquido da gelare dentro un recipiente cilindrico di metallo, il quale a sua volta veniva immerso in una tinozza di legno, in cui era stata preparata una miscela di ghiaccio e sale. Il cilindro metallico veniva fatto girare. Quando la sostanza zuccherina cominciava ad attaccarsi alle pareti del cilindro, veniva via via staccata con una spatola di legno finché, grazie alla bassa temperatura, il liquido solidificava in cristalli fini (Panciera, 2020). Nasceva così il sistema di mantecazione del gelato.

La storia del gelato prosegue nel 1843 lungo le coste statunitensi, dove una giovane donna di nome Nancy Johnson rivoluzionò la produzione del gelato artigianale attraverso l’invenzione della prima gelateria a manovella, consistente in un mastello riempito di sale e ghiaccio meccanizzato con un cilindro metallico per l’impasto che veniva poi girato con una manovella. L’invenzione sarà successivamente perfezionata da William Le Young, che applicò al mastello un motore ottenendo un raffreddamento uniforme del composto.

Il primo gelato industriale su stecco, *il mottarello* al fiordilatte, nasce in Italia nel 1948. Subito dopo, negli anni 50, arriva il primo cono con cialda industriale il mitico *Cornetto*.

1.2 Cos'è il gelato?

Con il termine ‘gelato’ si intende una famiglia di prodotti lattiero-caseari che vengono prodotti tramite la tecnica del congelamento e che vengono consumati allo stato congelato.

Il gelato è formato da una miscela di aria combinata con acqua, grassi, dolcificanti, stabilizzanti, emulsionanti e aromi. Inoltre, a seconda della tipologia di produzione, sono presenti altri ingredienti, come prodotti a base di uova, coloranti ed idrolizzati di amido.

Le formulazioni delle miscele (definiti come i componenti formanti il gelato escludendo l'acqua e l'aria) possono variare nei diversi paesi, in base alle località e alle tendenze di mercato. I singoli costituenti, a seconda della propria percentuale di presenza all'interno delle miscele possono influenzare la qualità del gelato stesso. Di conseguenza, ottenere una corretta formulazione che garantisca le qualità organolettiche di un buon gelato mantenendo il gusto desiderato è spesso sfida per i produttori.

Le miscele vengono tradizionalmente pastorizzate ed omogeneizzate prima del congelamento. Il congelamento porterà alla formazione di cristalli di ghiaccio ed una rapida rimozione del calore per garantire la levigatezza e la morbidezza, caratteristiche fondamentali per questo dessert.

Il gelato presenta una struttura molto complessa, in quanto è formato contemporaneamente da un'emulsione, una dispersione e una schiuma. La dispersione e l'emulsione consistono principalmente in una fase sierica acquosa concentrata per congelamento, contenente zucchero e sostanze secche che circondano cristalli di ghiaccio dispersi e globuli di grasso (Marshall et al., 2003; Cook et al., 2010).

La componente proteica è un fattore molto importante, in quanto contribuisce alla struttura del grasso e dell'aria, che, adsorbendosi alle interfacce e alla fase non congelata, forniscono proprietà di consistenza ed aumentano la viscosità.

1.3. Composizione del gelato

1.3.1 Acqua

L'acqua è una componente essenziale per la produzione del gelato ed ha il ruolo principale di stabilizzazione e standardizzazione del contenuto di grassi presenti all'interno del mix.

1.3.2 Bolle d'aria

Fino a più della metà del volume del gelato è costituito da aria, con valori (aumento di volume dovuto all'incorporazione dell'aria come percentuale del volume della miscela) che possono variare dal 25% fino al 150%. Questa fase di aria si presenta sottoforma di bolle finemente disperse con una dimensione che varia da pochi micron a oltre 100 μm . La dimensione media delle bolle d'aria si trova spesso tra i 20 e i 25 μm . Le bolle d'aria conferiscono una consistenza leggera ai dessert congelati. La schiuma, quindi, è formata da bolle d'aria disperse in tutta la struttura e sostenute da globuli di grasso parzialmente coalescenti (Goff, 2002; Marshall et al., 2003).

1.3.3 Stabilizzanti

Gli stabilizzanti sono ingredienti di origine polisaccaridica comunemente usati nella produzione del gelato.

Essi hanno molteplici scopi, tra cui:

- Aumentare la viscosità della miscela;
- Stabilizzare la miscela;
- Favorire la sospensione delle molecole aromatiche;
- Ritardare o ridurre la crescita dei cristalli di ghiaccio e di lattosio durante la conservazione;
- Rallentare la migrazione dell'umidità;
- Conferire al prodotto una resistenza allo scioglimento;
- Aumentare la morbidezza nella consistenza durante il consumo.

Gli stabilizzanti, per essere utilizzati nella produzione del gelato, devono avere un sapore neutro.

I più utilizzati nell'industria del gelato sono la farina di semi di guar e di carrube, gomma di cellulosa e carragenina.

Solitamente vengono utilizzati circa dallo 0,2% al 0,5% del totale del composto per non avere degli effetti collaterali, come una eccessiva gommosità, che comporterebbe un decremento delle caratteristiche organolettiche e texture.

Gli idrocolloidi sono principalmente polisaccaridi.

| | |
|------------------|---|
| Proteins | Gelatin |
| Plant exudates | Arabic, ghatti, karaya, and tragacanth gums |
| Seed gums | Locust (<i>carob</i>) bean, guar, psyllium, starch, and modified starches |
| Microbial gums | Xanthan |
| Seaweed extracts | Agar, alginates, <i>carrageenan</i> |
| Pectins | Low and high methoxyl |
| Cellulosics | <i>Sodium carboxymethylcellulose</i> (<i>cellulose gum</i>), microcrystalline cellulose (<i>cellulose gel</i>), methyl and methylethyl celluloses, hydroxypropyl and hydroxypropylmethyl celluloses |

(tab. idrocolloidi utilizzati come stabilizzanti nel gelato.)

La maggior parte degli idrocolloidi, tuttavia, in presenza di latte sono responsabili della separazione di fase, (Bourriot et al. 1999a, b; Schorsch et al. 1999, 2000), nota come *lattesiero*. Solitamente per far fronte a questo problema viene utilizzata la carragenina, che può ritardare nettamente questo processo.

1.3.4 Zuccheri

Per la produzione del gelato vengono utilizzati i seguenti zuccheri

| Ingredient | Average molecular weight | Relative sweetness ^a | Total solids (%) | Relative freezing point depression ^b | Maximum total sugar supplied ^c (%) |
|---------------------------------|--------------------------|---------------------------------|------------------|---|---|
| Dextrose | 180 | 74 | 92 | 1.90 | 40 |
| Fructose | 180 | 173 | 100 | 1.90 | 40 |
| Sucrose | 342 | 100 | 100 | 1.00 | 100 |
| Lactose | 342 | 16 | 100 | 1.00 | d |
| Maltose | 342 | 32 | 100 | 1.00 | 40 |
| Honey | ~270 | 75 | 74 | 1.46 | 45 |
| Invert sugar | ~270 | 95 | 77 | 1.12 | 30 |
| <i>High fructose corn syrup</i> | | | | | |
| 90% | 180 | 125 | 77 | 1.88 | 50 |
| 55% | 185 | 98 | 77 | 1.85 | 50 |
| 42% | 190 | 86 | 71 | 1.80 | 50 |
| <i>High maltose corn syrup</i> | | | | | |
| 55 DE | 411 | 55 | 81 | 0.83 | 40 |
| <i>Corn syrups</i> | | | | | |
| 64 DE | 298 | 68 | 82 | 1.15 | 25–50 |
| 42 DE | 428 | 48 | 80 | 0.80 | 25–50 |
| 36 DE | 472 | 42 | 80 | 0.72 | 25–50 |
| 32 DE | 565 | 40 | 80 | 0.61 | 25–50 |
| 20 DE | 900 | 23 | 80 | 0.38 | e |
| <i>Maltodextrins</i> | | | | | |
| 15 DE | 1,200 | 17 | 95 | 0.29 | e |
| 10 DE | 1,800 | 11 | 95 | 0.19 | e |
| 5 DE | 3,600 | 6 | 95 | 0.10 | e |

^a Sweetness relative to sucrose on an as is or product basis

^b Factor to estimate freezing point depression relative to solids equal in weight to sucrose

^c Percent of sugar on a sweetness basis generally acceptable from a quality viewpoint

^d Lactose provides low sweetness, but amount is limited by tendency to crystallize

^e Lower DE corn starch products build body and provide bulk rather than sweetness

TAB2. Caratteristiche degli zuccheri

Gli zuccheri abbassano il punto di congelamento del composto; concentrazioni elevate andrebbero a compromettere l'*overrun*, che causerebbe dei problemi strutturali durante la mantecazione.

1.3.4.1. Saccarosio

Il saccarosio, comunemente chiamato zucchero da tavola.

È un prodotto cristallino composto circa dal 99% di solidi ed ha una densità di 1,588 g/mL.

Il saccarosio ha la proprietà di rimanere solubile all'interno del gelato fino a temperature molto basse, di circa -20 gradi e questo fattore è capace di abbassare il punto di congelamento. Si stima che un aumento di circa l'1% di saccarosio sia in grado di abbassare il punto di congelamento dell'intero composto di 0,1 grado.

L'uso esclusivo di questo zucchero nel gelato può portare alla formazione di cristalli sulle superfici. Si può far fronte però a questo problema utilizzando destrosio contenente 3,5 parti di saccarosio.

1.3.5. Latte

Per latte si intende il prodotto di secrezione delle ghiandole mammarie delle femmine dei Mammiferi: liquido bianco, opaco, contenente, in soluzione o sospensione, proteine, grassi, carboidrati, sali minerali, fra cui il fosfato di calcio, vitamine, ormoni, e antigeni; è un alimento completo e indispensabile per la prole nel primo periodo della vita; per norma, con tale termine si deve intendere solo il latte vaccino.

Il latte è composto da acqua, grassi di origine lattiero casearia e solidi non grassi (MSNF), dispersi in una vera e propria soluzione costituita da una parte di colloidi ed una parte di emulsione.

Gli MSNF sono i solidi del latte scremato e comprendono lattosio, proteine, minerali, vitamine idrosolubili ed enzimi.

1.3.5.1. Lipidi del latte

I lipidi nel latte sono contenuti nei globuli di grasso sottoforma di emulsione. Sono presenti acidi grassi con catene che vanno da 4 a 24 molecole di C, con maggiore presenza di acido butirrico (4 C), acido caproico (6 C) ed acido caprilico (8 C). Una grande parte degli A.G. possiede doppi legami nella catena. Essi prendono il nome di Acidi Grassi Insaturi. Dalla combinazione di acidi grassi saturi ed insaturi si ottiene una temperatura di fusione di circa 37 gradi, che, a temperature più basse (circa 22 gradi) passerà ad uno stato semisolido. A 4° C due terzi dei grassi apparirà in forma solida.

Le altre sostanze associate alla famiglia dei grassi del latte sono i fosfolipidi, le lecitine, i carotenoidi, gli steroli, il colesterolo, le vitamine A D E K. Il colesterolo è il principale sterolo

presente nel latte, con una concentrazione dello 0,015%, dove il 75-80% è associato alla frazione lipidica. (H. Douglas Goff, Richard W. Hartel Ice Cream Seventh Edition p. 45-51).

Il grasso del latte partecipa in modo importante al sapore ricco, pieno e cremoso del gelato. Il principale componente aromatico è proprio l'acido butirrico, acido grasso insaturo a catena corta che però è soggetto, in condizioni favorevoli, ad irrancidimento.

Per la produzione del gelato viene utilizzata la panna fresca. L'acidità titolabile della panna contenente circa il 40% di grassi non deve superare il 10% per avere il massimo delle sue potenzialità.

La panna per essere utilizzata deve essere pastorizzata a 75 gradi per 15 minuti, per ridurre lo sviluppo di sapori sgradevoli dovuti a microrganismi.

1.3.5.2. Proteine del latte

Le proteine del latte si dividono principalmente in caseine e proteine del siero. Le caseine rappresentano la maggiore percentuale (75-80%) e si suddividono in diverse tipologie: $\alpha 1$ -, $\alpha 2$ -, β - e κ -caseina. Esse sono molto stabili al calore e si presentano sotto forma di micelle, hanno un diametro che varia dai 50 ai 500 nm.

Le proteine del siero del latte sono formate principalmente da α -lattoalbumina, β -lattoglobulina, immunoglobuline e alcune proteine minori. Esse precipitano ad una temperatura di circa 77° C.

Le proteine (principalmente le caseine) conferiscono consistenza morbida al gelato grazie alle interazioni col grasso nella formazione e stabilizzazione delle emulsioni e alla formazione di bolle d'aria con formazione di schiuma.

Per migliorare le caratteristiche organolettiche del gelato possono essere utilizzati diversi tipi di latte provenienti da razze bovine diverse. Il latte maggiormente utilizzato per la produzione del gelato è costituito principalmente da caseine A1 presente in molte razze bovine, tra cui la Frisona.

Negli ultimi anni, in relazione a diversi studi scientifici si è presa in considerazione l'idea di utilizzare latte contenente caseine A2, proveniente da alcune razze bovine, tra cui la Jersey.

1.3.5.3.Frisona

La “Frisona” è una razza bovina diffusa a partire dal 1200, originaria della regione Frisia, a cavallo tra la Germania ed i Paesi bassi. Nel corso della storia, questo bovino si è diffuso in tutto il mondo grazie alla spiccata attitudine lattifera, e viene al giorno d’oggi definita, ‘razza cosmopolita’.

Dal regolamento del ‘Libro Genealogico della Razza Frisona Italiana’ approvato con D.M. del 15/01/1981 e gestito dall’ ANAFI, riportiamo di seguito le principali norme tecniche:

- Finalità della produzione: La selezione dei bovini della razza Frisona Italiana ha lo scopo di produrre esemplari precoci per sviluppo e produttività. I soggetti devono avere una buona mole, conformazione corretta, costituzione forte, devono essere longevi, di forte potere digestivo e respiratorio.

Devono dimostrare una spiccata attitudine ad un’elevata produzione di latte e buon titolo di grassi e proteine. Devono inoltre avere una buona attitudine alla produzione di carne;

- Caratteri morfologici: La razza Frisona deve avere un mantello pezzato nero o pezzato rosso (carattere dovuto ad un gene recessivo). La pezzatura può variare dal bianco unico al nero o leopardato (attribuito al ceppo canadese).

Le vacche devono avere un’altezza al garrese di circa 130/150 cm e un peso che si aggira dai 550 Kg agli 800 Kg. I tori invece hanno un’altezza di circa 140/155 cm e un peso intorno ai 1000 Kg;

- Produttività lattifera: In un periodo di lattazione di circa 305 giorni le vacche riescono a produrre circa 9200 Kg, con un contenuto in grasso e proteine di circa il 3.3%;

Per latte si intende il prodotto ottenuto da mungitura regolare, ininterrotta e completa degli animali in buono stato di salute. Esso varia in termini di composizioni organolettiche in base alle specie che lo producono.

Il latte prodotto dalla razza Frisona è il più diffuso nell'industria alimentare, e oltre ad essere esso stesso considerato come un alimento, è utilizzato in moltissime produzioni industriali.

Il latte di frisona possiede le seguenti caratteristiche:

- Lipidi: il 98% è rappresentato da trigliceridi, con 1—2% fosfolipidi+steroli (colesterolo ed alcuni ormoni come estrogeni);
- Proteine: circa 75% proteine sono caseine, un 20% sono sieroproteine e nell'ambito delle sostanze azotate abbiamo sempre un 4-5 di azoto non proteico (NPN quali AA liberi, urea e ammoniaca);
- Carboidrati: unico zucchero è il lattosio, composto da glucosio e galattosio (isomero del glucosio). Il lattosio si produce a livello delle cellule secernenti mammarie. La sua concentrazione è relativamente stabile. A livello di latte freschissimo il lattosio è costante. La disponibilità di glucosio a livello mammario regola la sintesi del latte. Dal momento in cui a livello delle cellule secernenti abbiamo poco glucosio, si avrà poco latte. Il 50% del glucosio viene usato per la sintesi del lattosio, mentre l'altro 50% usato per la sintesi delle altre componenti del latte. Questo giustifica la pressoché costanza della concentrazione di lattosio nel latte;
- Componente minerale: il calcio è presente in una forma molto biodisponibile. Vitamine liposolubili: A, D, E, K. Particolarmente ricche in animali che usano il pascolo.



1.3.5.4. Jersey

La ‘‘Jersey’’ è una razza bovina di origine inglese, dall’isola di Jersey, la più grande delle isole del Canale della manica, nei pressi delle coste della Normandia.

Questa razza possiede un’estrema capacità di adattamento a diverse tipologie di climi ed allevamenti. In Italia è frequentemente utilizzata in un co-allevamento con la frisona italiana, in quanto il suo latte aumenta la resa media in grasso della produzione totale di latte.

È una razza deputata alla produzione di latte ed è tutelata dall’ ANAJER, un’associazione nata dalla volontà degli allevatori bovini di salvaguardare e promuovere la crescita e la valorizzazione della Jersey. ANAJER cura la tenuta del Libro Genealogico della Razza Jersey Italiana, svolge l’attività di Ente Selezionatore e predisponde programmi genetici da sottoporre per l’approvazione all’Autorità Competente.

In base al libro genealogico possiamo esibire le seguenti norme tecniche:

- Caratteri morfologici: Il colore del mantello si presenta fromentino, con diverse sfumature chiare o brune tendenti al rosso. Presenta inoltre zone bianche su ventre e fianchi. Il corpo si presenta spigoloso, con ossatura delicata, ma con arti robusti di una colorazione nera ed argentea. Il nappo della coda si presenta di colore nero. Le vacche sono alte circa 120 cm e hanno un peso intorno ai 450 Kg. Presentano inoltre una mammella ben sviluppata con cute pigmentata. I tori sono alti circa 130 cm e hanno un peso di circa 550 Kg. Il loro mantello è più scuro, tendente al grigio. Questa razza si presenta meno soggetta a contrazioni di patologie dovute ad allevamento intensivo (quali difficoltà di parto, mastiti, chetosi).
- Produttività lattifera: in un periodo di lattazione di circa 305 giorni questa razza riesce a produrre circa 6600 Kg, con un contenuto in grasso del 5% e di proteine del 4%.

Rispetto al latte di altre razze, quello della Jersey contiene alti contenuti di grasso, proteine e calcio.

Nella Jersey è diffusa la variante genetica che porta alla produzione di caseina ‘‘ancestrale’’ A2.

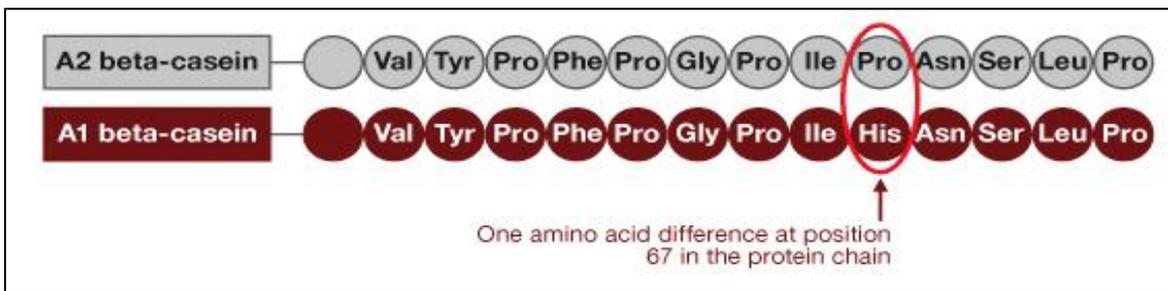


1.4. La β -caseina A2

Le caseine costituiscono quasi l'80% delle proteine presenti nel latte vaccino e appartengono a quattro diversi sottotipi, α -s1-caseina, α -s2-caseina, k-caseina e la β -caseina; quest'ultima rappresenta uno dei sottotipi più abbondanti, con il 30% del totale delle caseine. (Daniloski et al 2021).

Gli studi genetici sulle razze bovine hanno evidenziato l'esistenza di 13 varianti genetiche della β -caseina: A1, A2, A3, B, C, D, E, F, G, H1, H2, I e J; tra queste, le varianti A1 e A2 sono le più comuni in tutto il mondo nei bovini da latte (Kamiński et al 2007).

La differenza nelle due forme genetiche riguarda una singola mutazione amminoacidica, in posizione 67 della catena polipeptidica, che comporta la presenza di un'istidina (His67) nella β -CN A1 (β -caseina) e una prolina (Pro67) nella β -caseina A2 del latte. Si pensa che questa mutazione sia comparsa 5-000-10-000 anni fa in alcuni allevamenti europei (EFSA). La presenza di His67 nel latte A1 consente agli enzimi (le proteasi) gastrointestinali umani, o al sistema proteolitico microbico, di eseguire una scissione proteolitica della β -caseina, che a sua volta provoca il rilascio di β -casomorfina-7 (BCM-7) durante la digestione e la maturazione del formaggio (si tratta di un peptide bioattivo). Al contrario, la scissione del legame (l'idrolisi proteolitica) sembra essere ostacolata nella β -caseina A2 (la prolina 67 si trova nell'ancestrale A2) dalla presenza della Pro67 (Kamiński et al 2007).

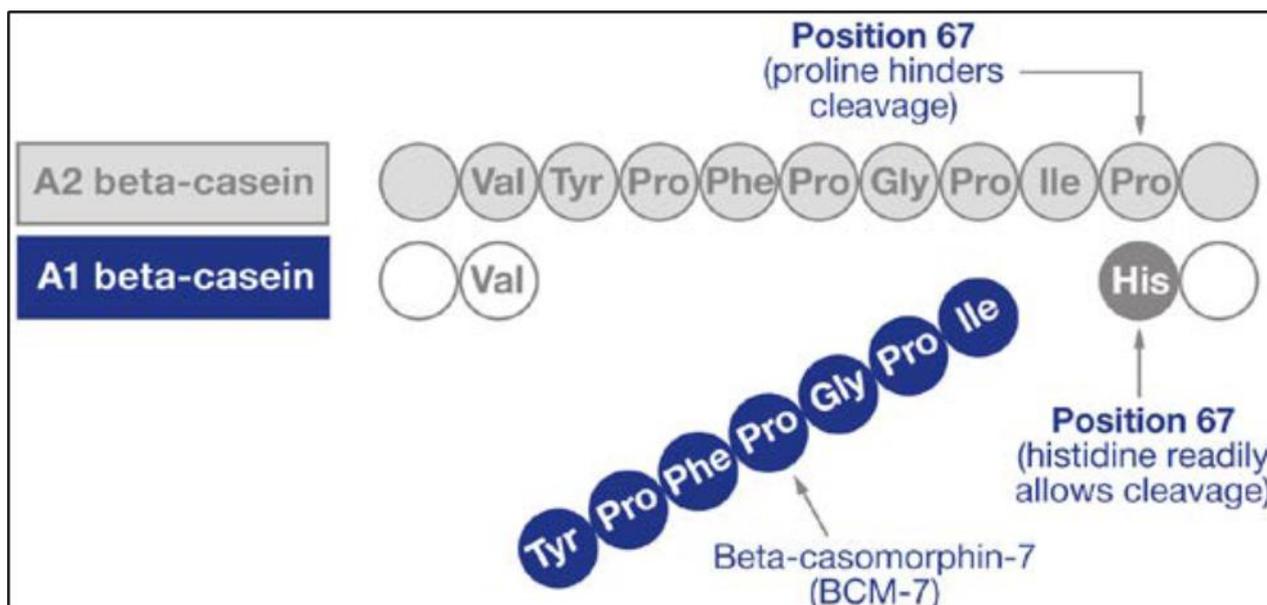


(tab 1. Struttura β -caseina A1 e A2)

Negli ultimi decenni, la comunità scientifica ha mostrato un crescente interesse per il potenziale impatto della BCM-7 e dei relativi peptidi sulla salute umana. Nel 2009, un rapporto scientifico dell'EFSA ha concluso che i dati disponibili erano insufficienti per affermare una relazione di causa-effetto tra la BCM e i disturbi non trasmissibili, come le malattie cardiovascolari, l'autismo e il diabete mellito insulino-dipendente (EFSA). Finora sono state condotte quattro revisioni sistematiche sul consumo di β -caseina A1 e A2 e sui risultati relativi alla salute. Le analisi scientifiche hanno concluso che il consumo di latte A2 può giovare allo stato gastrointestinale rispetto al latte A1, tuttavia risultavano inconcludenti i risultati su altri potenziali benefici sulla salute umana. (Daniloski et al 2021; Brooke-Taylor et al 2017; Küllenberg de Gaudry et al 2019; Küllenberg de Gaudry et al 2022)

1.4.1. Rilascio di beta-casomorfina-7

Le due principali varianti della β -caseina A1 e A2 possono essere considerate come "famiglie" di " β -caseina" e comprendono almeno 10 sottovarianti. Quelli della famiglia A1 sono: B, C, D, F e G. Quelli della famiglia A2 sono: A3, E, H1, H2 e I. Non è dimostrato se le diverse strutture terziarie delle sottovarianti, all'interno della famiglia A1, abbiano alcun effetto sul rilascio del peptide BCM-7. Tuttavia, ci sono alcune evidenze scientifiche che la sottovariante B possa comportare un rilascio particolarmente elevato di BCM-7 (De Noni, 2008).



(tab 2. Struttura β -caseina A1 e A2)

La beta-caseina A1 è stata rilevata solo nei bovini di origine europea, mentre quelli asiatici e africani producono latte contenente solo β -caseina A2, sebbene tra le razze asiatiche e africane ci siano stati incroci che hanno portato alla presenza di bovini che producono β -caseina A1.

È stato osservato che la prevalenza relativa della beta-caseina A1 e A2 nei bovini dipende dalla razza; quelle nordeuropee presentano livelli più elevati di β -caseina A1 rispetto a quelle dell'Europa meridionali e, nello specifico, le razze Guernsey e Fleckvieh hanno una frequenza dell'allele A2 particolarmente elevata. Tuttavia, all'interno di uno specifico allevamento, basare la stima della frequenza allelica sulla razza non risulta affidabile. Negli allevamenti di molti paesi occidentali, il rapporto A1:A2 è di circa 1:1 (De Noni et al 2009).

Il rilascio in vivo di BCM-7 dal latte dipenderà dal contenuto proteico del latte stesso (che è a sua volta influenzato dalla razza, dall'alimentazione animale e dalle procedure di lavorazione del latte), dalla proporzione della beta-caseina A1 e A2 e le predisposizioni/condizioni gastrointestinali specifiche dell'individuo.

Il peptide BCM-7 viene rilasciato non solo in seguito alla digestione del latte ma anche dello yogurt e del formaggio, e con ogni probabilità, di qualsiasi prodotto lattiero-caseario (De Noni et al 2009). Durante la fermentazione del latte, nella produzione dello yogurt, alcuni batteri

possono idrolizzare la BCM-7 (Hamosh et al. 1989) e sorge il dubbio se gli stessi batteri presenti nello yogurt abbiano un comportamento simile all'interno del tratto gastrointestinale umano nell'idrolizzare il peptide.

Nel latte materno, la β -caseina è di tipo A2, con una prolina in posizione 67. Il BCM-7 umano ha una sequenza amminoacidica diversa rispetto al BCM-7 bovino, con omologia in cinque dei sette amminoacidi (diversi amminoacidi nelle posizioni quattro e cinque) (Hamosh et al. 1989; Wada et al 2015) e un'attività oppioide considerevolmente più debole (Koch et al, 1985; Brantl et al 1984). Wada e Lonnerdal hanno esaminato il latte umano non digerito e digerito in vitro e hanno riportato la presenza di BCM-9 umano (che ha una prolina alla posizione otto), ma non BCM-7 o BCM-5 (BCM-5 è la forma troncata di BCM-7).

Tuttavia, Jarmolowska et al. hanno riportato la presenza sia di BCM-5 che di BCM-7 nel colostro umano (in media rispettivamente 5 e 3 g/mL), ma a 2 mesi dall'inizio del periodo di allattamento, gli autori hanno riportato quantità molto inferiori (Jarmolowska et al, 2007). È stato ipotizzato che la funzionalità delle casomorfine nei neonati possa essere correlata:

- 1) al legame materno,
- 2) alla funzione gastrointestinale,
- 3) allo sviluppo della mucosa,
- 4) all'induzione del sonno.

1.4.2. Caratteristiche degli oppioidi delle casomorfine del latte

Le β -casomorfine sono ligandi dei recettori degli oppioidi; quelle naturali di un certo rilievo sono la BCM-5, BCM-7 e BCM-9, mentre quella con effetti più marcati è la BCM-5, che potrebbe anche essere rilasciata dalla BCM-7 all'interno del sistema biologico umano ad opera dell'enzima carbossipeptidasi Y (Wasilewska et al, 2011).

Wasilewska et al. hanno riferito che la BCM-5 bovina è presente nel siero di neonati umani allattati esclusivamente al seno da madri che consumano latte bovino. Tuttavia, non è stato dimostrato se la BCM-5, riscontrata nel siero sia effettivamente di origine materna oppure di origine bovina; infatti, in quest'ultimo caso, la BCM-7 potrebbe essere stata assorbita dalla madre in seguito all'ingestione di latte vaccino e poi trasformata a BCM5 prima o dopo l'assorbimento intestinale.

La seconda casomorfina naturale più potente è la BCM-7, mentre la terza è la BCM-9, che viene rilasciata dalla variante di tipo A2 della β -caseina (Boutrou et al, 2013; Wada et al, 2015). Infatti, questa casomorfina presenta l'aminoacido prolina in posizione 67, che diventa quasi un marcatore identificativo della caseina A2; al contrario, non era presente istidina che si trova invece nella variante A1 in posizione 67. Il distacco del peptide BCM-7, ad opera delle proteasi gastrointestinali, risulta più facile proprio per la presenza dell'istidina in posizione 67; al contrario, la BCM-9, con una prolina in posizione 67, è resistente alla scissione. Questo peptide mostra proprietà oppioidi, ma con affinità di legame per i recettori oppioidi circa un quarto rispetto alla BCM-7 (Jinsmaa et al 1999). Questi risultati sono in accordo con quelli di Barnett (et al.) che ha condotto uno studio sui ratti. Si è osservato che, mentre la beta-caseina A1 mostrava una serie di effetti gastrointestinali bloccati dall'antagonista del recettore oppioide naloxone, tali effetti non si verificavano con la beta-caseina A2 dopo la somministrazione di naloxone (Barnett et al, 2014).

1.4.2.1. β -caseine, β -casomorfine e il transito intestinale

I recettori degli oppioidi sono ampiamente presenti nell'uomo, anche nel tratto gastrointestinale. Infatti, è noto che l'attivazione del recettore degli oppioidi influisce sui meccanismi della propulsione e della funzione intestinale e svolge un ruolo fisiologicamente importante nel controllo della regolazione della motilità, della produzione di muco e di ormoni. L'attivazione del recettore gastrointestinale dell'oppioide avviene sia sui neuroni enterici che direttamente sulle cellule epiteliali (Lang et al, 1996).

Diversi altri studi forniscono la prova diretta che la caseina e/o i suoi derivati diminuiscono la motilità gastrointestinale, riducendo in parte la frequenza e l'ampiezza delle contrazioni intestinali (Becker et al, 1990; Defilippi et al, 1995; Mihatsch et al, 2005; Schulte-Frohlinde et al, 1994; Daniel et al, 1990).

Alcune sperimentazioni:

- 1) Studi condotti sulla digestione dei cani, alimentati con caseina e proteine della soia, a confronto, hanno mostrato che la caseina ha ridotto significativamente di motilità dell'intestino tenue (ad es. forza e frequenza di contrazione) e che il pretrattamento con naloxone (il naloxone blocca l'effetto degli oppioidi, ha un effetto opposto a quello degli

oppioidi, li inibisce) ha bloccato questo effetto (Defilippi et al, 1995), confermando l'effetto degli oppioidi esogeni.

- 2) Allo stesso modo, è stato anche dimostrato che la caseina ritarda il tempo di transito gastrointestinale nei ratti rispetto alle proteine del siero di latte, con il naloxone che inverte parzialmente o completamente questi effetti della caseina, indicando ancora una volta che l'attività oppioide della caseina ritarda il tempo di transito (Daniel et al, 1990)..
- 3) Nei cuccioli di ratto, alimentati con caseina intatta in polvere o caseina idrolizzata, il tempo di transito nell'intestino tenue è stato ritardato (Mihatsch et al, 2005) e l'effetto della caseina intatta sul ritardo del tempo di transito è stato prevenuto con la somministrazione di naloxone. Questi risultati suggeriscono che i peptidi con attività oppioide vengono rilasciati durante la digestione della caseina intatta, che può causare ritardi nel tempo di transito gastrointestinale. Questo effetto non era evidente dopo l'alimentazione dei cuccioli di ratto con caseina idrolizzata.
- 4) Un recente studio sugli effetti della beta-caseina A1 versus A2 sul transito gastrointestinale, condotto su animali da laboratorio, ha dimostrato che la β -caseina A1 ritarda il tempo di transito gastrointestinale rispetto alla β -caseina A2 (Mihatsch et al, 2005). La co-somministrazione di naloxone (inibitore degli oppioidi) ha bloccato gli effetti della dieta A1 sul tempo di transito, ma non ha avuto effetti nei ratti alimentati con la dieta A2. I risultati indicano che la dieta A1 ha effetti diretti sulla funzione gastrointestinale con rallentamento del tempo di transito e fornisce ulteriore evidenza sugli effetti della caseina A1 nell'alimentazione.

1.4.3. BCM 7 e lattosio

Risulta attualmente in discussione la relazione tra l'effetto della BCM 7 e il malassorbimento del lattosio.

- 1) Gli effetti infiammatori promossi dalla BCM-7 possono influenzare la produzione/attività della lattasi e possibilmente esacerbare l'ipolattasia esistente e i conseguenti sintomi di malassorbimento del lattosio in individui predisposti.
- 2) L'infiammazione del colon influisce sull'assorbimento del lattosio, probabilmente attraverso i cambiamenti nel microbiota intestinale, che si verificano con l'infiammazione intestinale (Cani et al 2008).

- 3) Il transito gastrointestinale rallentato, a causa della presenza dell'oppioide BCM-7, favorisce la fermentazione del lattosio.

Queste sono possibilità coerenti con lo stato attuale delle conoscenze sui sintomi gastrointestinali correlati al malassorbimento del lattosio. Tuttavia, necessitano di essere testate in ulteriori indagini cliniche.

L'intolleranza al latte è un problema complesso e rilevante sia per la salute pubblica che per quella individuale. È risaputo che il malassorbimento del lattosio (e i conseguenti sintomi) rappresenta uno degli elementi della sindrome, ma è anche evidente che ci sono altri fattori in gioco. Il ruolo potenziale della β -caseina A1 è senza dubbio rilevante e richiede un esame più attento se si desidera comprendere tutta la problematica. L'Autorità Europea per la sicurezza alimentare si sta occupando dei possibili effetti sulla salute delle β -casomorfine e della BCM-7 (De Noni et al 2007). Nel 2009 l'EFSA ha riconosciuto che la BCM-7 esercita attività biologiche come effetti regolatori 1) sulla motilità gastrointestinale 2) e sulle secrezioni gastriche e pancreatiche.

Tuttavia, l'EFSA ha concluso che non è stato possibile stabilire una relazione di "causa ed effetto" tra l'assunzione alimentare di BCM-7 e le malattie non trasmissibili valutate, che includevano diabete di tipo 1, malattie cardiache e disturbi dello spettro autistico. Si è giunti a queste conclusioni in quanto la BCM-7 non era stata rilevata nel sangue umano dopo l'assunzione di latte o caseina, e in parte perché non c'erano conoscenze sufficienti sui livelli di BCM-7 che probabilmente provenivano dalla digestione del latte e dei suoi prodotti. Inoltre, il rapporto dell'EFSA non ha affrontato in modo specifico i problemi dell'intolleranza al lattosio.

Diversi studi sono stati pubblicati dopo il rapporto EFSA (2009); questi riportano che il peptide oppioide BCM-7 viene rilasciato in quantità farmacologicamente rilevanti dalla digestione della β -caseina A1, ma non della β -caseina A2, nel sistema gastrointestinale umano. È anche chiaro che, negli esperimenti sugli animali, la BCM-7 manifesta una gamma di effetti sia nei modelli in vitro che in vivo. Questi effetti includono quelli:

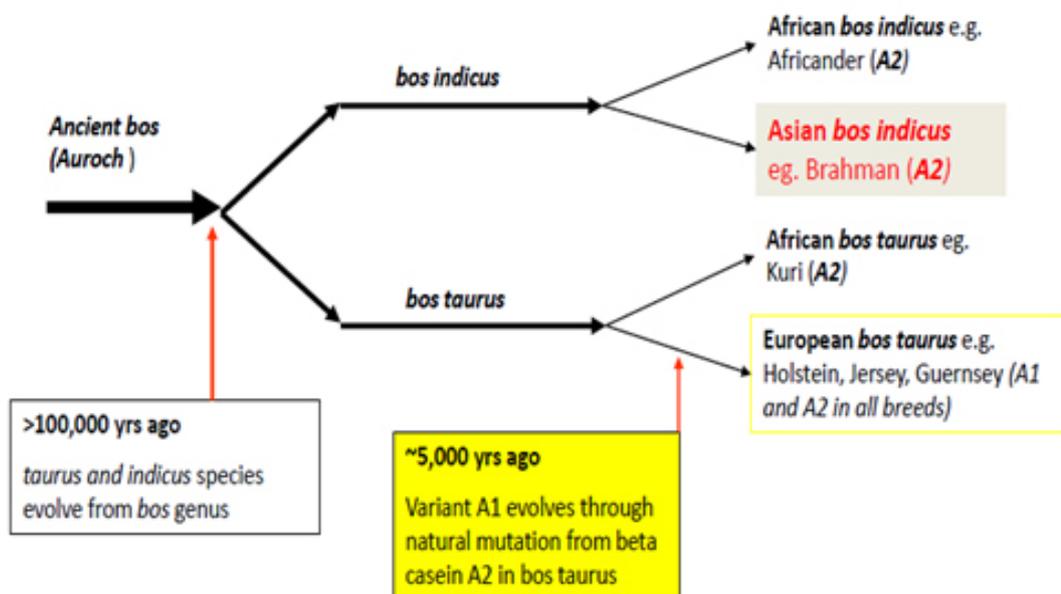
- 1) sulla motilità gastrointestinale,
- 2) sugli esiti proinfiammatori
- 3) e immunomodulatori.

La maggior parte, ma non necessariamente tutti, di questi effetti sono correlati agli oppioidi. Data la complessità dei meccanismi d'azione, è ragionevole aspettarsi che i sintomi esibiti varieranno da individuo a individuo.

Data la specificità della β -caseina A1 per i bovini di origine europea, e quindi anche il rilascio di BCM-7, le prove attuali forniscono anche una spiegazione del perché alcune persone riferiscono aneddoticamente di poter tollerare il latte di mammiferi come le pecore e capre (GenBank Accession No. AJ011019.3) (che contengono beta-caseina simile ad A2 e non A1, perché hanno una prolina nella posizione omologa sulle catene della β -caseina), ma non quello vaccino.

Questa evidenza ha motivato alcuni produttori ad allevare bovini da latte privi di β -caseina A1; tali allevamenti esistono già e, ove disponibili, la produzione lattiero casearia è supportata dai consumatori (Sebely et al 2015)

1.4.4. Produzione di latte



Evoluzione genetica delle razze bovine in funzione della variante A2/A1

Diverse razze bovine presentano una maggiore o minore tendenza a sintetizzare β -caseina A2. Confrontando alcune importanti razze di bovini da latte, sulla base di test genetici, il tasso più

elevato di beta-caseina A2 si trova nel latte di Guernsey, seguito in ordine decrescente: Brown Swiss, Ayrshire, Jersey, Milking Shorthorn e Holstein (Woodford, 2011).

La Holstein è la razza bovina che produce più latte al mondo. Le Holstein hanno segni distintivi, solitamente di colore bianco e nero o rosso e bianco. Nel 2016 (Ungheria) la produzione media è stata di 9-10 mila kg durante una lattazione con un contenuto di proteine pari al 3,5 – 4% e di grassi L 2,8 – 3,5% (Holló et al, 2016). Grazie alla sua resa significativa, la Holstein si sta diffondendo sempre più nel mondo. Tuttavia, se si desidera produrre latte A2, è necessario riflettere sul fatto che questa razza ha meno geni che portano alla sintesi di β -beta-caseina A2 (Woodford, 2011).

La Jersey è adattabile a una vasta gamma di condizioni climatiche e geografiche e produce più latte per chilogrammo di peso corporeo rispetto a qualsiasi altra razza; inoltre, il latte è di altissima qualità per il consumo umano in quanto più ricco di proteine, calcio e altri solidi rispetto ad altre razze (Béri, 2013). Infine, ha i geni che sintetizzano per la β -caseina A2 (Kaminski et al, 2007).

Da segnalare una specie che ha buone possibilità di produrre latte A2 e che ha iniziato ad essere di uso comune. Lo zebù, a volte noto come bovino gobbo (*Bos indicus*) è una specie di animale domestico originario dell'Asia meridionale. Gli zebù hanno gobbe al garrese, grandi giogaie e orecchie cadenti e si sono adattati al duro ambiente dei tropici (Bodnár et al, 2012). Lo zebù è allevato anche per la produzione del latte, nonostante abbia comunemente un livello di produzione inferiore rispetto alle moderne razze bovine.

1.4.5. β -caseina A2, proprietà fisico-chimiche e aspetti tecnologici

L'effetto delle varianti caseiniche sulle performance casearie è un argomento poco studiato. Infatti, la ricerca bibliografica ha evidenziato che la maggior parte delle revisioni pubblicate non ha considerato abbastanza gli aspetti qualitativi e tecnologici associati al genotipo A2/A2 nel latte e nei prodotti caseari. Si è osservato tuttavia che la sostituzione di Pro/His in posizione 67 sembra influenzare la struttura e la conformazione della parte idrofoba della sequenza della β -caseina, e ciò influisce sulle proprietà emulsionanti e stabilizzanti delle due isoforme, così come sulla capacità coagulante (Akos et al 2018).

La presenza di BCM-7 e dei relativi peptidi in diversi prodotti lattiero caseari è stata segnalata e quantificata più volte in passato (Akos et al 2018). Inoltre, si ritiene che la produzione e la maturazione nei formaggi stagionati e la proteolisi da parte dei batteri dell'acido lattico e dei probiotici esercitino un ruolo fondamentale nella modulazione del rilascio di BCM-7, prima e dopo la digestione gastrointestinale. Ad esempio, è stato riportato che la BCM-7 è più elevata nei formaggi a crosta fiorita o erborinati, cioè con presenza e attività fungina (Brie e Rokpol) che nei formaggi a pasta semidura, anche se è stato riportato che gli enzimi proteolitici delle colture starter del formaggio ne riducono la quantità durante la maturazione (Akos et al 2018).

Al contrario, la presenza della BCM-7 nello yogurt è stata piuttosto controversa; infatti, il peptide è stato rilevato solo nello yogurt non commerciale ottenuto su scala di laboratorio probabilmente a causa dell'idrolisi da parte di specifici batteri inoculati (Akos et al 2018).

Il BCM-7 è stato ampiamente rilevato negli alimenti per lattanti (Akos et al 2018), compresi alcuni prodotti ottenuti con latte A2/A2, evidenziando possibili problemi di contaminazione, in particolare a causa della presenza di proteine aggiunte nella formulazione (principalmente proteine del siero di latte concentrato).

Sono stati studiate le attitudini tecnologiche della β -caseina A2, tra cui le caratteristiche produttive del formaggio (resa e composizione del latte, attitudine alla coagulazione), nonché proprietà fisiche, tra cui le attitudini schiumogene, emulsionanti e la stabilità al calore.

Dagli studi condotti si è dedotto che i cambiamenti strutturali e conformazionali, apportati dalla sostituzione di Pro/His nella sequenza della β -caseina nella variante A2 vs. A1, coinvolgono la parte idrofobica della sequenza e possano influenzare alcuni aspetti tecnologici. Ad esempio, il contenuto Pro più elevato della variante A2, aumenta la formazione di eliche di poliprolina.

I primi studi sulla qualità del latte prodotto da razze bovine con genotipo A2/A2 si sono concentrati per lo più sui tratti produttivi, come la resa in latte, in proteine e grassi e sulla concentrazione complessiva della caseina.

Uno degli aspetti più studiati del latte A2/A2 è la sua minore capacità coagulante rispetto a quella del latte A1/A1 e A1/A2. Diversi autori hanno rilevato una maggiore presenza della variante A2 nel latte non coagulante, un tempo di coagulazione più lungo, la formazione di una cagliata più sciolta e una resa in formaggio inferiore.

Il motivo di questa minore performance quali-quantitativa nella resa, in termini di coagulazione presamica, è dovuta a una minore idrofobicità che si traduce nella presenza di isoforme più

solubili o in micelle di dimensioni maggiori (Akos et al 2018). In effetti, le micelle di caseina nel latte A2 sono di maggiori dimensioni, hanno un potenziale z negativo inferiore, presentano strutture più casuali e meno strutture α -elicoideali rispetto al latte con β -caseina A1. La tendenza a formare cagliate più sciolte può portare a gel più morbidi, caratterizzati da pori più grandi e da una rete proteica meno densa.

Lo yogurt prodotto con latte A2/A2 si presenta più delicato e meno compatto, ma probabilmente anche più rapidamente digeribile.

Per quanto concerne le proprietà emulsionanti e schiumose del latte, la variante A2 ha un pI più acido della A1, ed è quindi più solubile, raggiungendo più rapidamente la superficie delle goccioline d'olio. La presenza di un'ulteriore prolina in A2 aumenta il contenuto di poliprolina-II, che si presenta sottoforma di elica, generando struttura meno ordinata, che può influenzare le proprietà emulsionanti e le proprietà schiumogene. Tuttavia, come riportato da Gai et al , l'influenza della variante A2 sulla formazione e sulla stabilità della schiuma è controversa e i risultati scientifici sono in contraddizione.

Alcune ricerche recenti riportano in sintesi i seguenti risultati:

- Il latte A2 aveva quantità inferiori di calcio e fosforo nonché un potenziale zeta negativo netto inferiore rispetto al latte A1 e A1/A2. Inoltre, il latte A2 era composto da particelle micellari di caseina più grandi con livelli inferiori di κ -caseina rispetto alle altre varianti della β -caseina.
- I gel ottenuti dal latte scremato A2 avevano un modulo elastico, una capacità di ritenzione idrica e una permeabilità del gel significativamente inferiori rispetto ai gel A1 e A1/A2.
- I gel caseinici, ottenuti per precipitazione acida, mostravano al microscopio una dimensione dei pori più grande e una microstruttura meno densa con il latte A2 rispetto ai latti A1 e A1/A2.
- Studi su alcuni formaggi, come il “Petit Suisse” non hanno mostrato differenze sensoriali per quanto riguarda la presenza di β -caseina A2.
- Sono state rilevate differenze sensoriali relativamente alla consistenza tra il formaggio ottenuto con latte A2 e A1; in particolare, il formaggio A2 era più cremoso e morbido.

I prodotti hanno presentato una buona accettazione sensoriale, suggerendo che il latte A2 è favorevole all'innovazione lattiero-casearia.

- In termini di tempo di coagulazione del caglio, la prestazione peggiore è stata riscontrata per il genotipo A2A2, dovuto ad una minore consistenza della cagliata, dopo 30 min. Cioè, un incremento della frequenza allelica A2 può comportare scarse caratteristiche di rassodamento e coagulazione della cagliata.
- Il latte fermentato A2 ha mostrato caratteristiche di viscosità migliori e una struttura stabile rispetto al latte fermentato A1. Gli autori hanno ipotizzato che queste differenze siano dovute a variazioni strutturali nelle micelle di caseina tra il latte A1 e il latte A2.
- L'aggiunta di alcuni ceppi di batteri lattici potrebbe migliorare la proteolisi. Il latte fermentato A2 ha mostrato caratteristiche di viscosità migliori e una struttura stabile rispetto al latte fermentato A1. Gli autori hanno ipotizzato che queste differenze siano dovute a variazioni strutturali nelle micelle di caseina tra il latte normale e il latte A2.
- Il latte A2 ha mostrato una migliore capacità di formazione di schiuma. Il latte A2 presentava una percentuale di calcio ionico libero e una concentrazione di monomeri più elevate.
- Lo yogurt del latte A2 era più poroso nella sua microstruttura e aveva un gel più delicato.

1.4.6. Il latte A2 nel mercato mondiale

The a2 Milk Company' ha chiesto all'Autorità europea per la sicurezza alimentare (EFSA) di intraprendere una revisione secondo cui il latte A1 potrebbe essere dannoso. Il rapporto dell'EFSA, pubblicato nel 2009, ha rilevato che "non è stata stabilita una relazione di causa ed effetto tra l'assunzione alimentare di BCM7 (beta-casomorfina-7), i relativi peptidi o i loro possibili precursori proteici e le malattie non trasmissibili" (EFSA, 2009).

Nonostante gli scarsi risultati, talvolta contraddittori presenti nella letteratura scientifica, l'interesse per la proteina β -caseina A2 e/o il latte A2 è attualmente in crescita. In Particolare, la zona geografica dell'Asia-Pacifico sembra particolarmente interessata alla diffusione del latte A2 in quanto è più forte la convinzione che il prodotto mostri caratteristiche, benefici e digeribilità simili al latte materno, specialmente quando viene somministrato ai bambini.



Nell'agosto 2003, "The a2 Milk Company" ha concesso in licenza esclusiva i diritti di brevetto e marchio a Ideasphere Incorporated (ISI) con sede negli Stati Uniti per commercializzare i prodotti a2 Milk in Nord America (A2 Corporation, 2004).

La "a2 Milk Company" ha formato una *joint venture* con un importante fornitore di latte britannico, Müller Wiseman Dairies, nel novembre 2011 per lavorare, commercializzare e vendere i suoi prodotti "a2 Milk" in Gran Bretagna e Irlanda (Ooi, 2011). Nel giugno 2014, "The a2 Milk Company" ha riferito di avere 20 aziende agricole dedicate che fornivano latte per la trasformazione nel Regno Unito (I nostri agricoltori, 2014). Nel suo primo anno, il latte ha registrato £ 1 milione di vendite attraverso 1000 negozi.

Le prime partite di latte "The a2 Milk Company" - a2 Platinum sono state inviate in Cina nel 2013 (Adams, 2014).

2.Obiettivi

La letteratura scientifica propone ormai da tempo articoli sulle proprietà salutistiche e tecnologiche del latte con caseina A2A2 e mette in evidenza differenze significative rispetto al latte con caseina A1A2.

In questa ricerca sono stati studiati due tipologie di gelato fiordilatte prodotto con latte di razza Jersey e Frisona. In particolare, il latte di Jersey presenta caseina A2A2 mentre quello di Frisona A1A2. Si è condotta una ricerca volta a caratterizzare i due gelati a partire dal latte, passando attraverso il mix (latte ed ingredienti), fino al gelato finito. Lo studio si è avvalso di strumenti analitici e fisici in grado di caratterizzare e confrontare i due prodotti e, attraverso i risultati ottenuti, individuare quegli elementi responsabili della qualità percepita, per mezzo dell'analisi sensoriale ed il giudizio del consumatore.

3.Materiali e Metodi

Analisi chimiche di base sul latte

3.1 Preparazione del campione

Si utilizza il latte fresco refrigerato di Frisona (F) e di Jersey (J).

Umidità

L'umidità del campione del latte utilizzato per la produzione del latte viene ricavata con la metodica AOAC 17th ED. 2000, 945.46. La procedura consiste nell'essiccare in stufa a 100°C per circa 4 ore il campione assieme alla sabbia di quarzo all'interno di una capsula. Questa viene poi raffreddata e pesata. Si effettua il ciclo in stufa fino a raggiungimento di peso costante.

La percentuale di materia secca viene espressa con la seguente formula:

$$\text{percentuale materia secca} = \frac{M_2 - m}{M_1 - m} * 100$$

Dove:

m= peso in grammi della capsula + sabbia;

M₂= peso in grammi della capsula + sabbia + latte;

M₁= peso in grammi della capsula + sabbia + latte secco

L'umidità percentuale si calcola poi per differenza, in particolare con la formula:

$$\text{umidità percentuale} = 100 - \text{peso secco percentuale.}$$

Determinazione delle ceneri

La determinazione delle ceneri all'interno dei due campioni di latte si esegue tramite il metodo ufficiale AOAC 17th ED. 2000; 945.46.

Si pesa il campione all'intero di una capsula e lo si pone in stufa fino a evaporazione dell'acqua presente, si carbonizza tramite fiamma Bunsen e si esegue la calcinazione in muffola a 550°C

fino all'ottenimento di ceneri bianche. Si raffredda in essiccatoio, si pesa e si ripete l'operazione fino a peso costante.

Determinazione del contenuto proteico

Il contenuto di proteine dei due lotti di latte viene analizzato tramite la metodica AOAC 17th ED. 2000, 991.20.

Questa analisi si effettua con il metodo Kjeldhal tramite lo strumento Kjeltac 2300 Foss Tecator e si basa sulla mineralizzazione dell'azoto contenuto nel campione.

Essa consiste nella trasformazione dell'azoto in ammoniaca, in seguito al riscaldamento della sostanza organica assieme a acido solforico concentrato, nella distillazione dell'ammoniaca in ambiente alcalino e nella sua quantificazione.

Una volta ottenuto il quantitativo di azoto totale lo si trasforma in percentuale di proteine presenti nell'alimento moltiplicando il valore ottenuto per 6,38, che corrisponde al fattore di conversione delle proteine dei prodotti lattiero-caseari.

Determinazione dei lipidi

La determinazione dei lipidi contenuti nei campioni di latte viene effettuata tramite il metodo ufficiale tedesco Röse-Gottlieb, VDLUFA metodo, vol. IV "metodi per latte, prodotti lattei e sostanze ausiliarie casearie" capitolo C15.2.1.

Questa metodica si basa sull'idrolisi del campione in acido cloridrico 4M, sull'essiccazione del residuo e sull'estrazione di questo tramite l'utilizzo di una miscela costituita da uguale quantità di etere di petrolio ed etere dietilico.

L'estrazione si effettua con il sistema di estrazione SOXTET 255 FOSS TECATOR.

Determinazione del lattosio

Il quantitativo di carboidrati presenti nel campione viene calcolato per via indiretta. In particolare, sottraendo al valore totale di 100 i valori relativi al contenuto percentuale di umidità, ceneri, proteine e lipidi, secondo la formula:

$$\% \text{ carboidrati} = [100 - (\text{umidità} + \text{ceneri} + \text{proteina} + \text{lipidi})] * 100$$

Determinazione dei minerali ICP-OES

Per tecnica ICP-OES si intende la spettroscopia ad emissione atomica accoppiata ad un plasma freddo e ad un rivelatore di tipo ottico. Questo strumento permette di inviare un'aliquota di campione tramite una pompa peristaltica ad un nebulizzatore, il quale trasforma il campione in aerosol e lo converge alla torcia ICP. La torcia è costituita dal plasma, il quale ha una temperatura tra 7000 e 10000°K, che permette l'eccitazione degli atomi che costituiscono il campione. Gli elettroni eccitati tornando allo stato fondamentale emettono energia luminosa, creando uno spettro di emissione a diverse lunghezze d'onda.

Alla base di questa tecnica vi sta il principio secondo cui ogni specie atomica è caratterizzata da una serie possibile di stati o livelli energetici e, di conseguenza, genera un caratteristico spettro di emissione. L'intensità di ogni riga dello spettro inoltre dipende dalla probabilità che avvenga la transizione elettronica e dal numero degli atomi che possono effettuarla; per questo motivo si riesce a stabilire una relazione lineare tra quantità di atomi presenti nel campione e intensità luminosa.

Compito del rivelatore ottico è quello di identificare gli elementi che costituiscono il campione attraverso le lunghezze d'onda che essi emettono e determinarne la quantità in base al confronto dell'intensità delle radiazioni elettromagnetiche emesse dal campione con quelle ottenute con le soluzioni note utilizzate durante la calibrazione dello strumento (Dahlquist R.L. & Knoll W., 1978).

Per la determinazione dei minerali nel latte risulta fondamentale la preparazione del campione. Il particolare si prende la falcon contenente il campione di latte e si riscalda in acqua fino a quando il termometro rileva una temperatura del campione pari a 35°C.

3.2 Formulazione del gelato

Il gelato fiordilatte è stato preparato come segue:

| |
|---|
| <p>2. Gelato Frisona A1A2 (F)</p> <ul style="list-style-type: none">- 1000 ml di latte (Frisona)- Panna fresca da latte di F 250 gr- Destrosio 230 g- inulina- Farina di carrube 2,5 g |
|---|

| |
|---|
| <p>1. Gelato Jersey A2A2 (J)</p> <ul style="list-style-type: none">- 1000 ml di latte (Jersey)- Panna fresca da latte di J 250 gr- Destrosio 230 g- inulina- Farina di carrube 2,5 g |
|---|

Il prodotto è stato pastorizzato a 65°C per 15 min e poi mantecato con la macchina da gelato BRAVO spa.

3.3 Analisi d'immagine

Per l'analisi microscopica si è utilizzato il microscopio ottico *Leica DM 2000 LED* con ingrandimento 100X, 200X e 400X. I campioni sottoposti ad analisi d'immagine sono stati prelevati freschi

Su ogni campione di latte sono state eseguite 20 acquisizioni di immagine con il *software Leica Application Suite X* (1.1.0.12420) e analizzate successivamente con il *software Axiovision Zeiss* e *ImageJ* ottenendo una visione completa della microstruttura del latte.

Microscopio ottico Leica DM 2000 LED



3.4. Analisi colorimetrica

Per valutare la variazione di colore si è svolta un'analisi colorimetrica grazie all'ausilio di uno spettrofotometro portatile il *CR-400 Chroma Meter* della *Konica Minolta*.

I campioni soggetti ad analisi sono il latte di J e quello di F:

Per ogni campione vengono analizzate le coordinate L^* , a^* e b^* sulla base del sistema CIELab. L^* indica la luminosità quindi il bianco, mentre a^* e b^* si riferiscono alle coordinate di cromaticità. In particolare, a^* va dal verde (- a) al rosso (+ a) e il b^* va dal blu (- b) al giallo (+ b).

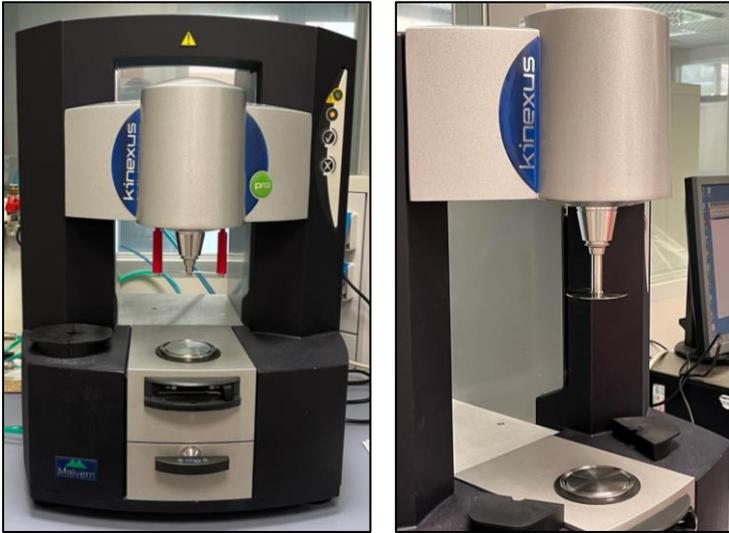
Spettrofotometro modello *CR-400 Chroma Meter* della *Konica Minolta* (www.konicaminolta.eu)



3.5 Reologia liquida

Per lo studio di reologia liquida è stato utilizzato il reometro rotazionale Kinexus Pro (Figura 5.5.2.1), il quale misura la viscosità (espressa in $\text{Pa}\cdot\text{s}$) e lo sforzo di taglio (espresso in s^{-1}). Prima di effettuare l'analisi, sono stati verificati: l'accensione dell'aria compressa e la presenza,

all'interno dello scambiatore/raffreddatore, del liquido antigelo a base di glicole. Successivamente sono stati accesi sia il reometro rotazionale che il computer. È stato avviato, da quest'ultimo, il software "R SPACE" e nel reometro rotazionale è stata rimossa la protezione dell'air binding, sollevandola leggermente e tirandola verso il basso. Sono state rimosse le cover piatto e la geometria è stata agganciata al rotore, posto in movimento da un motore, supportato da un cuscinetto ad aria compressa, che permette di ottenere un movimento privo di attrito. Nel nostro caso, è stata utilizzata una geometria a cono con diametro di 40 mm, ideale per sostanze liquide. Tale geometria fornisce uno shear rate costante ed è adatta per misurare la viscosità. La geometria è stata riconosciuta in automatico dallo strumento e successivamente è stato effettuato lo ZERO GAP, ossia la calibrazione della distanza tra la geometria e il piatto di caricamento del campione, generalmente impostata a 150 micron. Lo ZERO GAP è stato effettuato ogni volta che è stata montata la geometria e nel software sono state selezionate le seguenti voci: "Torque mapping", "Calibration 0105", "Calibrazione in aria per 20 minuti". In seguito, la geometria è stata abbassata verso il piatto ed è stata coperta con le cover piatto. Un accorgimento è stato quello di non toccare il bancone da lavoro, in quanto la macchina risulta essere sensibile alle vibrazioni. Terminata la calibrazione, sono state tolte le cover piatto ed è stata effettuata l'analisi. Dal software è stata selezionata la voce "LOAD SAMPLE", dopo, dalla sezione "VISCOSIMETRY" è stata selezionata la voce "Shear rate ramp" ed è stata impostata la temperatura di 25°C. In seguito, sono stati inseriti i seguenti dati: Shear stress: da 0,001 a 5 Pa, Start shear rate: da 0,1 a 300 s⁻¹, End shear rate: 100,00 s⁻¹, Ramp time: 10 minuti, Samples per decade: 20. Nella descrizione sono stati inseriti i dati del campione (latte e "miscela gelato"). Successivamente è stato caricato il campione. Sono stati prelevati, mediante una pipetta Pasteur in plastica, 3 ml di campione, i quali sono stati posti al centro del piatto, facendo un movimento circolare verso l'esterno, in modo tale che il campione coprisse l'intera superficie occupata dalla geometria. A questo punto, la geometria è stata abbassata verso il piatto, è stata avviata l'analisi ed è stata selezionata la voce "Final results", per osservare il grafico della viscosità rispetto allo shear rate. Entrambe le unità di misura del grafico sono espresse in unità logaritmiche. Per il salvataggio dei dati sono stati selezionati: la voce "Table", l'intera tabella contenente i dati e la voce "Export data". Il file è stato salvato con il formato ".csv", ma poiché si tratta di un formato non leggibile in altri dispositivi, il file è stato convertito, copiando l'intera tabella in un nuovo foglio Excel. Su tale foglio, sono stati inseriti i grafici "viscosità vs shear rate" e "cross model fit results". Una volta conclusa l'analisi, è stato rimosso il campione restante mediante un panno di carta imbevuto di acqua. Infine, la geometria e il piatto sono stati rimossi, lavati con cura con dell'acqua e asciugati mediante un panno di carta.



Reometro rotazionale Kinexus Pro.

3.6 SDS PAGE

Le frazioni proteiche del latte sono state solubilizzate in Laemlii buffer e analizzate in SDS-PAGE al 15% acrilamide. La corsa è stata condotta a 48 mA costanti in MiniProtean cell con standard a peso molecolare noto (Biorad-161-0318). I gel ottenuti sono stati colorati con Comassie Brilliant Blue, Sypro Ruby Stain (Sigma) I gel sono stati acquisiti con ChemiDoc™ XRS e le immagini elaborate con ImageLab Software (Bio-Rad).

3.7 Reologia solida

Per l'analisi della texture ci siamo affidati al dinamometro *TA. XT Plus Texture Analyser* della *Stable Micro System*. È uno strumento in grado di misurare le caratteristiche fisiche degli alimenti quali durezza e coesività grazie all'utilizzo di una sonda, di una cella di carico (usata per misurare la forza) e di un *software*.



Dinamometro *TA. XT Plus Texture Analyser* della *Stable Micro System*
Sonda *Stable Micro System 45'*
Conical Perspex.

Le sonde sono progettate per ogni applicazione e sono facili da montare. Per le nostre analisi sono state utilizzate la sonda a cono.

Le analisi per la valutazione delle caratteristiche fisiche sono state svolte su vaschette di gelato “abbattuto” di circa 350 g. Durante lo spostamento, il mantenimento della temperatura dei campioni, è garantito dall’utilizzo di un contenitore isolante riempito di ghiaccio.

- SONDA A CONO: si utilizza una geometria a cono che, sotto l’azione della forza del pistone del dinamometro, penetrerà la matrice da analizzare. Anche per quest’analisi, per verificare la ripetibilità del dato, sono state svolte cinque misurazioni. A causa della perdita di consistenza ai bordi della vaschetta tutte le misurazioni sono state effettuate al centro della matrice nei punti in cui il prodotto non è soggetto a sbalzi termici.

Come per l’estrusione, i parametri impostati per l’esecuzione di questa analisi sono stati scelti in base a quelli degli anni precedenti e illustrati nella tabella qui di seguito.

| Caption | Value | Units |
|------------------------------------|-------------------------|--------------|
| Test mode | Compression | |
| Pre-test speed | 1,00 | mm/sec |
| Test speed | 2,00 | mm/sec |
| Post-test speed | 10,00 | mm/sec |
| Target mode | Distance | |
| Distance | 10,00 | mm |
| Trigger type | Auto (force) | |
| Trigger force | 5,0 | g |
| Break mode | Off | |
| Stop plot at | Start position | |
| Tare mode | Auto | |
| Advanced options | On | |
| Control oven | Disabled | |
| Frame deflection correction | Off (XT2 compatibility) | |

Tab. Elenco dei parametri da inserire nelle impostazioni del dinamometro per la sonda a cono.

A differenza dei parametri previsti per l'estrusione, il cono prevede un limite di rilevabilità, *trigger force*, impostato a 5,0 g questo significa che lo strumento inizierà l'analisi una volta superato tale valore di forza.

Anche in questo caso al termine dell'analisi il *software* elaborerà un grafico che mette in relazione la forza (kg) sul tempo (sec).

3.8 Melting test

Tramite il melting test vengono analizzati il tempo di gocciolamento e la velocità di scioglimento o velocità di fusione del gelato, correlata al grasso del latte, che svolge un ruolo importante nella formazione e stabilizzazione delle cellule d'aria. Un minor grado di destabilizzazione del grasso ($\pm 30\%$) si traduce in uno scioglimento più rapido (Muse & Hartel, 2004). La velocità di fusione del gelato è influenzata da molti fattori, tra cui l'overrun, i solidi

totali, la quantità di aria incorporata, la natura dei cristalli di ghiaccio, il contenuto proteico e la rete di globuli di grasso formati durante il congelamento. Lo scioglimento è caratterizzato da 3 fasi: penetrazione del calore all'interno della matrice e scioglimento dei primi cristalli di ghiaccio, la fusione rapida e infine il collasso della struttura. La resistenza del gelato allo scioglimento è definita come la capacità dello stesso di conservare più a lungo la forma iniziale; questo aspetto costituisce un fattore positivo nella valutazione del gelato. Il comportamento allo scioglimento fornisce informazioni sui cambiamenti strutturali che si verificano durante il consumo del gelato. Questo fenomeno è molto variabile a seconda della loro composizione e delle condizioni di lavorazione. La fusione del gelato comporta il trasferimento sia di massa che di calore. Quando il gelato si scioglie, il calore si trasferisce dall'aria calda, che circonda il prodotto, al gelato, provocando liquefazione dei trigliceridi a basso punto di fusione e dei cristalli di ghiaccio. L'acqua di fusione diluisce la fase sierica viscosa e le consente di defluire ed uscire dalla complessa struttura schiumosa del gelato, per poi scorrere verso il basso, a causa della gravità, attraverso gli elementi strutturali come globuli di grasso destabilizzati, cellule d'aria e cristalli di ghiaccio rimanenti. Muse & Hartel, (2004) propongono la seguente teoria: quando il gelato si trova nella condizione di "frozen state", la struttura è stabilizzata dai cristalli di ghiaccio e dall'elevata viscosità del serum non congelato. Tuttavia, durante il processo di scioglimento, l'entità del fenomeno è strettamente dipendente dalla presenza di agglomerati di grasso, situati nella parte di serum non congelato. Quando i globuli di grasso e gli aggregati raggiungono dimensioni comprese nell'intervallo della larghezza delle lamelle della schiuma (diametro critico dei globuli di grasso), bloccano le lamelle e impediscono il drenaggio del siero. Inoltre, gli aggregati formano dei ponti sciolti tra le bolle d'aria, il che porta a una matrice di schiuma meccanicamente stabile, simile a una mousse. I globuli di grasso più grandi e gli agglomerati, che sono attaccati alle bolle d'aria da ponti di calcio, supportano questo effetto. I globuli di grasso e gli agglomerati più piccoli del diametro critico defluiscono dalla matrice del gelato con la fase sierica. In presenza dei globuli di grasso, il gelato è instabile e si scioglie più velocemente. Inoltre, è stato dimostrato che il gelato con un alto overrun abbia una ridotta velocità di fusione rispetto ad un gelato con bassi valori dello stesso parametro. Si presume che un overrun maggiore riduca la velocità di fusione, poiché le celle d'aria riducono la diffusività termica del gelato (Muse & Hartel, 2004), ossia il rapporto fra conducibilità termica e il prodotto di densità e calore specifico della materia in esame. Il tasso di fusione del gelato può essere determinato posizionando un campione di gelato su una rete metallica a circa 25°C per un'ora e misurando il tasso di accumulo di liquidi nella parte sottostante. Nello specifico, il gelato abbattuto, dal volume di 196,625 ml e peso di 100 ± 5 g, è stato rimosso dalla vaschetta

mediante un gesto secco, per ottenere un blocco intero di gelato e poi è stato posto su una retina, a sua volta, posta su una griglia metallica, situata all'interno di una camera termostata, impostata a $25 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$. In contemporanea è stato attivato un cronometro fino alla caduta della prima goccia di gelato sul contenitore di vetro sottostante, posto su una bilancia elettronica di precisione Adventurer Pro Ohaus, tarata prima di avviare il test. Tale contenitore è utile per la raccolta del gocciolato, ossia il gelato sciolto. La vaschetta con il gelato restante è stata pesata. Alla caduta della prima goccia, è stato registrato il tempo, scattata una fotografia, registrato il peso della prima goccia ed è stato attivato il cronometro per 1 ora. Sono state scattate altre due foto del gocciolato, una a 30 minuti e una a 60 minuti. La prova ha una durata di 60 minuti e i valori di gocciolamento sono stati osservati e registrati ogni 5 minuti.



Camera termostata impiegata nelle prove con annessi: griglia e retina per il gelato, bilancia, contenitore per il gocciolato e videocamera per riprendere il peso del gocciolato durante i 60 min di prova.

3.9 Analisi sensoriale

L'analisi sensoriale, in questo studio, è stata utilizzata per valutare se fra i gelati ottenuti con latte J ed F vi fossero differenze significative.

Gli step del QDA sono:

1. raccolta descrittori per l'aspetto, aroma, gusto, olfatto, texture (brain storming)

2. generazione di termini descrittivi
3. descrittori riorganizzati proposti al panel
4. standards ed estremi delle scale
5. punteggio assegnato e ripetizioni
6. il dato finale si ottiene riportando i valori medi

La rappresentazione grafica del QDA è usata per studiare i profili sensoriali dei due campioni.

Il consumer test è stato eseguito da 100 consumatori, tra i 20 e i 50 anni di età. Sono stati espressi dei giudizi da scarso a ottimo ed una valutazione sui parametri: caramello, latte condensato, cremosità e fusibilità.

3.9.1 Analisi statistica

Per l'analisi statistica si sono utilizzati test statistici quali: il Tuckey test ($p < 0.05$), il box plot, le distribuzioni, il calcolo delle medie e gli intervalli di confidenza al 95%. Infine, i programmi StatGraphic Centurium, ORIGIN (ADALTA) e Excel. Con lo scopo di ottenere un dato significativo, per ogni prova si sono eseguite tre ripetizioni. È stata eseguita l'analisi delle componenti principali PCA.

4. Risultati e discussione

4.1 Analisi generale latte

Considerato il crescente interesse nei confronti della qualità del gelato, a partire dalla composizione e formulazione dei suoi ingredienti, che devono essere percepiti come naturali, in questa ricerca si è eseguito un confronto tra due campioni di latte destinati alla produzione di due gelati “fior di latte”. In particolare, è stato considerato il latte di vacche Jersey (campione J), appartenente alla variante genetica che produce latte con caseina A2A2; inoltre, il latte proviene da allevamenti condotti a circa 2000 metri di altitudine. Il campione di controllo è rappresentato da latte di Frisona (campione F), ottenuto da allevamenti condotti in pianura e dotato di caseina A1A2.

In un primo momento si è eseguito il confronto dei due campioni di latte in base al contenuto di proteine e lipidi. Come si evince dai grafici di figura 1, il latte J presenta più proteine, circa 3,5%, mentre i lipidi si trovano in percentuale del 6,5%, doppia rispetto al latte F. Anche la concentrazione di caseina risulta leggermente superiore in J, mentre il rapporto caseina/proteina totale non è influenzata dalla razza. Se la concentrazione proteica e lipidica è superiore nel latte J, diversa è la situazione per il lattosio, che risulta in questo caso statisticamente più basso in J rispetto a F. La maggior percentuale di proteina, caseina e lipidi giustifica il più alto contenuto di materia secca e ceneri nel latte J. Questi risultati sono in accordo con quanto riportato da Jensen et al (2012); gli autori osservano valori di grassi, proteine e caseina del latte di J più elevati rispetto a quelli di F.

Anche l'analisi degli elementi minerali sui due campioni di latte mette in luce differenze significative. In particolare, il B e il Ba sono più elevati, ma è soprattutto il Ca a essere maggiormente presente nel latte J. Importante anche la maggior presenza di Fe, di Mg e Mn. Il latte F risulta invece più ricco di K. I valori qui riportati sono abbastanza in linea con quelli rilevati da Dunshea et al (2019) che tuttavia sottolineano l'importanza di fattori quali, l'alimentazione, la stagione ecc. nella variabilità della componente minerale dei campioni di latte. Anche nel caso oggetto di questo studio, la variabilità e le differenze riscontrate tra i campioni di latte J e F potrebbero essere attribuibili non solo all'effetto delle due razze diverse ma anche alle condizioni di allevamento delle bovine da latte (la J allevata al pascolo di montagna e la F in stabulazione in pianura). Le analisi sulla composizione chimica e minerale del latte sono state condotte per meglio comprendere le differenze tra i due campioni in funzione della loro applicazione nella produzione del gelato.

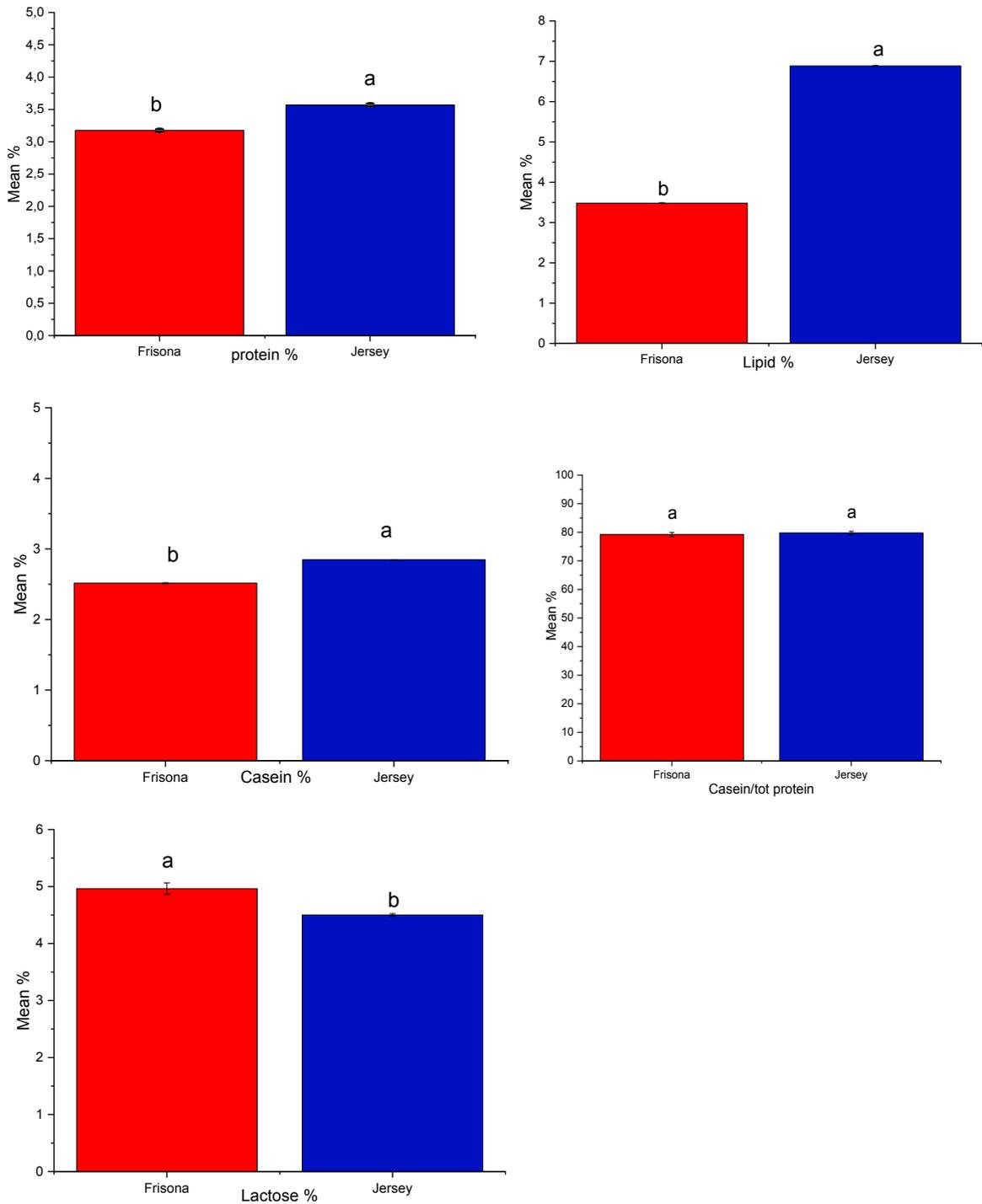
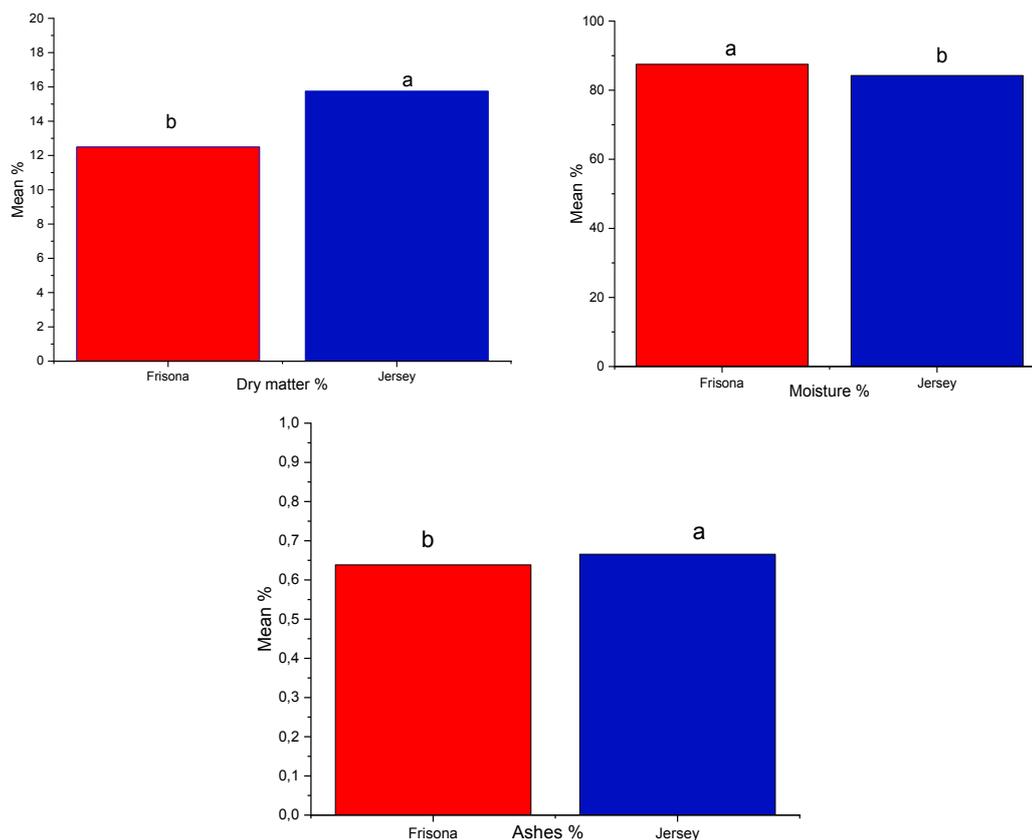


Figura 1: Composizione del latte di J e di F; proteine, lipidi, caseina, caseina sul totale di proteina e lattosio. Sulle analisi è stato eseguito il test statistico Tukey test con $p < 0,05$. I risultati sono la media di 6 replicati.



| mg/Kg | FRISONA | JERSEY |
|-----------|----------------------|----------------------|
| B | 0,36 ^b | 0,41 ^a |
| Ba | 0,03 ^b | 0,20 ^a |
| Ca | 1055,76 ^b | 1284,95 ^a |
| Cr | 0,03 ^a | 0,04 ^a |
| Fe | 0,43 ^b | 0,64 ^a |
| K | 1474,76 ^a | 1464,03 ^b |
| Mg | 99,80 ^b | 113,57 ^a |
| Mn | 0,02 ^b | 0,04 ^a |
| Mo | 0,03 ^b | 0,08 ^a |

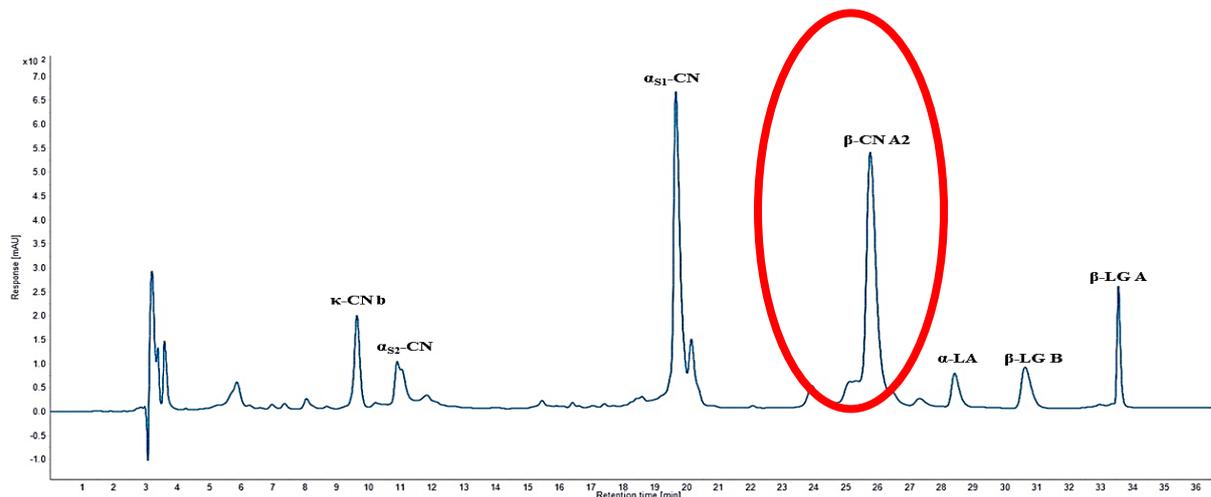
Tabella 1: composizione minerale dei due campioni di latte. Sulle analisi è stato eseguito il test statistico Tukey test con $p < 0,05$. I risultati sono la media di 6 replicati.

4.1.2. Proteine

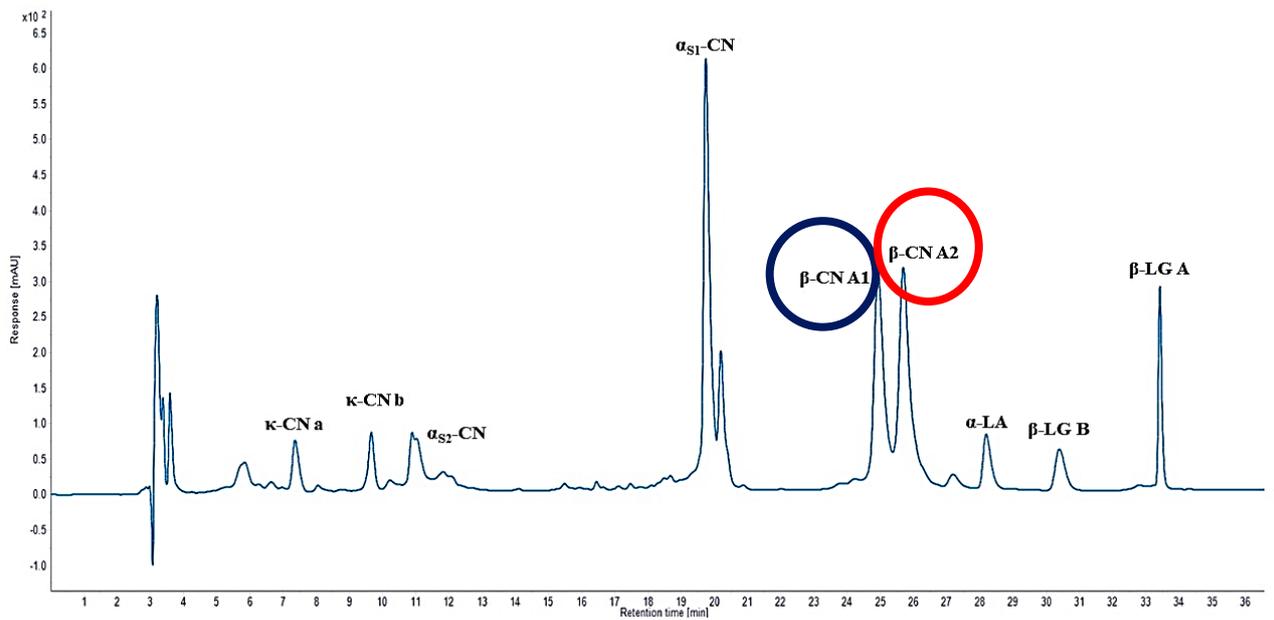
Per caratterizzare le proteine del latte è stata eseguita l'analisi HPLC e i picchi integrati per quantificare le sieroproteine e le caseine dei due campioni. Come si evince dalla figura 2, il latte J presenta solo il picco della caseina A2; al contrario, nel campione di latte F è presente, oltre al picco di caseina A2, anche quello della A1. Dal confronto dei due cromatogrammi (vedi i profili sovrapposti) si nota che in linea di massima i profili proteici dei due campioni sono simili, fatta eccezione per la presenza del picco κ -CN α , che compare solo nel campione F, inoltre il picco della caseina A2 compare solo nel campione J. La quantificazione delle singole proteine, presenti nel profilo HPLC, mostra alcune differenze tra i campioni. In particolare, in accordo con quanto osservato nei grafici di figura 1 (vedi anche Figura 2 e Tabella 2):

1. Le proteine e le caseine totali sono presenti in maggior quantità nel campione di latte J.
2. La κ -CN α è presente nel latte F, mentre non compare in quello J.
3. La κ -CN β è più elevata in J.
4. Le caseine α s2-CN e α s1-CN sono maggiormente presenti nel campione di J.
5. β -CN è più elevata nel latte F.
6. Il campione di latte J presenta più sieroproteine totali; la β -LGB è più elevata in J.

Cromatogramma campione 1 – β -CN A2A2- Jersey (J)



Cromatogramma campione 2 - β -CN A1A2 Frisona (F)



Confronto tra i due cromatogrammi dei campioni analizzati

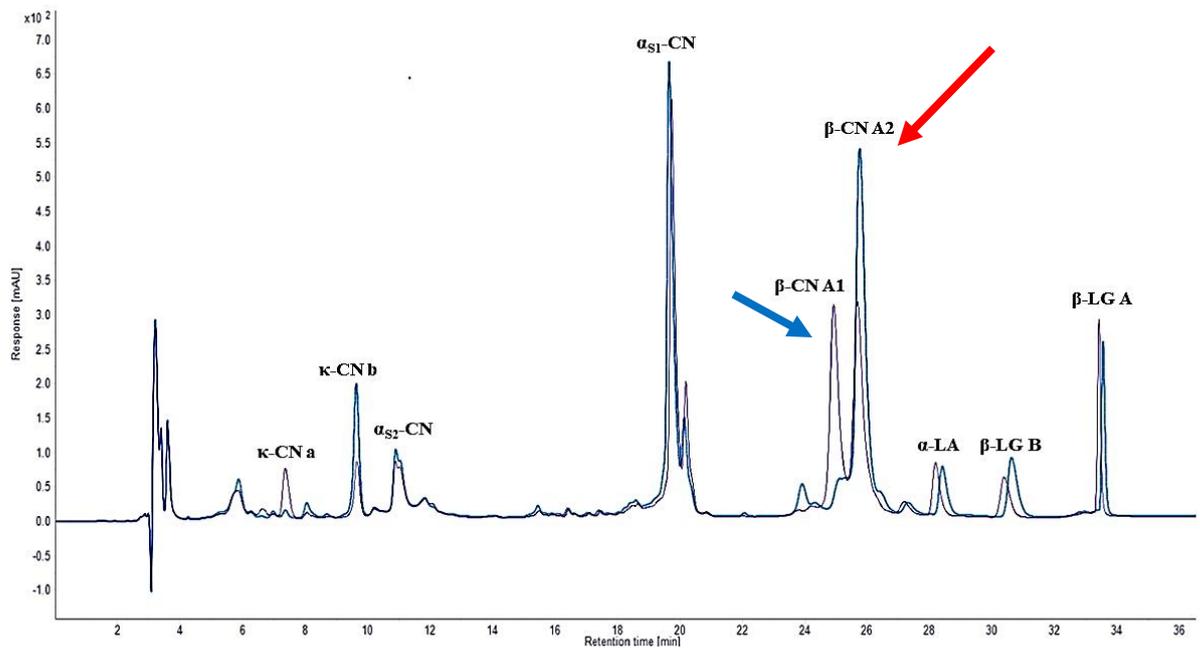


Figura 2: Cromatogrammi eseguiti con l'HPLC sui campioni di latte J e F.

Tabella 2: Quantificazione delle singole frazioni proteiche (mg/mL), calcolate sui picchi dell'HPLC.

| Frazioni proteiche (mg/mL) | Campione J - A2A2 | Campione F – A1A2 |
|---|--------------------------|--------------------------|
| Proteine totali | 39,513 | 38,414 |
| Caseine totali | 32,224 | 31,721 |
| κ-CN α | 0 | 3,697 |
| κ-CN β | 5,714 | 2,608 |
| α_{S2}-CN | 3,634 | 3,329 |
| α_{S1}-CN | 11,434 | 10,284 |
| β-CN | 11,442 | 11,803 |
| | | |
| Sieroproteine totali | 7,289 | 6,693 |
| α-LA | 1,350 | 1,395 |
| β-LG B | 2,622 | 1,731 |
| β-LG A | 3,317 | 3,567 |

4.1.2.1 Analisi proteica SDS-PAGE

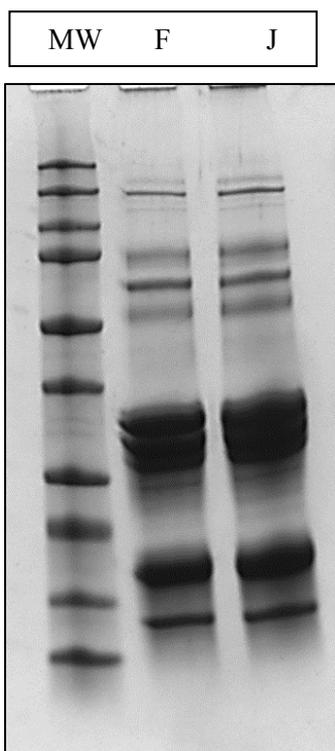


Figura 3: SDS-PAGE dei campioni di latte F e J.

Le proteine dei campioni di latte J e F sono state sottoposte a SDS PAGE per visualizzare le frazioni caseiniche e sieroproteiche e quantificarle in termini percentuali.

Come si evince dalla figura 3, i profili elettroforetici dei due campioni di latte non differiscono nella distribuzione dei patterns caseinici e sieroproteici principali. Tuttavia, considerata la diversa incidenza di alcune bande rispetto ad altre, in termini di dimensioni ed intensità di colore, l'immagine è stata digitalizzata per rendere più oggettive le differenze colte visivamente. Grazie al software Biorad, i profili proteici analizzati hanno messo in luce differenze quantitative nei due patterns proteici a confronto. In particolare, il campione di latte F mostra il valore più alto (banda %) relativamente alla caseina, pari al 48,8%, maggiore rispetto alla stessa banda nel campione J (46,4%). Tuttavia, si sottolinea che questo tipo di analisi non permette di quantificare le singole caseine in quanto comigrano nel gel dando luogo ad un'unica banda più spessa.

La β -lactoglobulina del campione J è pari al 23,9%, superiore al latte F (22,5%), mentre le albumine presentano valori superiori nel campione F.

4.1.3. Globuli di grasso

I campioni di latte F e J sono stati osservati al microscopio ottico per analizzare i globuli di grasso. Come si osserva dalla figura 4, il latte F e J differiscono per la numerosità dei globuli: nel latte J sono di gran lunga più numerosi rispetto al latte F. Per quanto riguarda la loro dimensione, essi non sembrano mostrare differenze apparenti, inoltre, in entrambe le figure, la maggior parte dei globuli mostrano dimensioni simili. Le immagini ottenute al microscopio sono state digitalizzate per mezzo del software Axiovision Zeiss per misurare il diametro dei globuli e poter confrontare i due campioni sulla base della loro dimensione. La conta dei globuli presenti in ogni riquadro delle immagini al microscopio ha permesso di caratterizzare il latte F e J proprio sulla loro numerosità. Come riportato in figura 4, il numero di globuli di grasso si aggira mediamente sui 900 nel latte di J e di 450 in quello di F. Si può affermare da questa osservazione al microscopio, che i globuli di grasso del latte J sono circa il doppio rispetto a

quelli di F e ciò potrebbe spiegare anche il dato analitico sul contenuto di lipidi: il latte di J presenta una concentrazione lipidica doppia rispetto a quello di F.

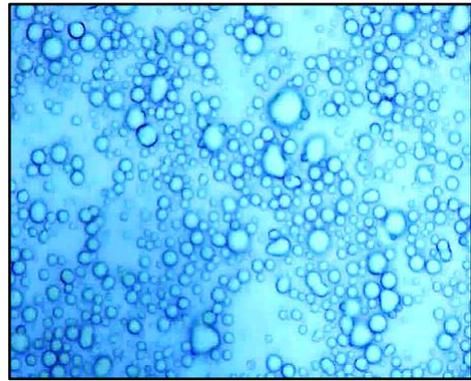
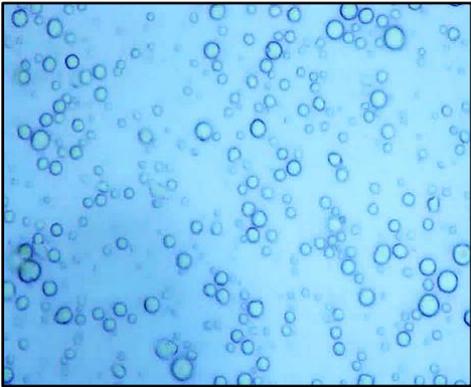


Figura 4: globuli di grasso di latte di F

globuli di grasso di latte di J

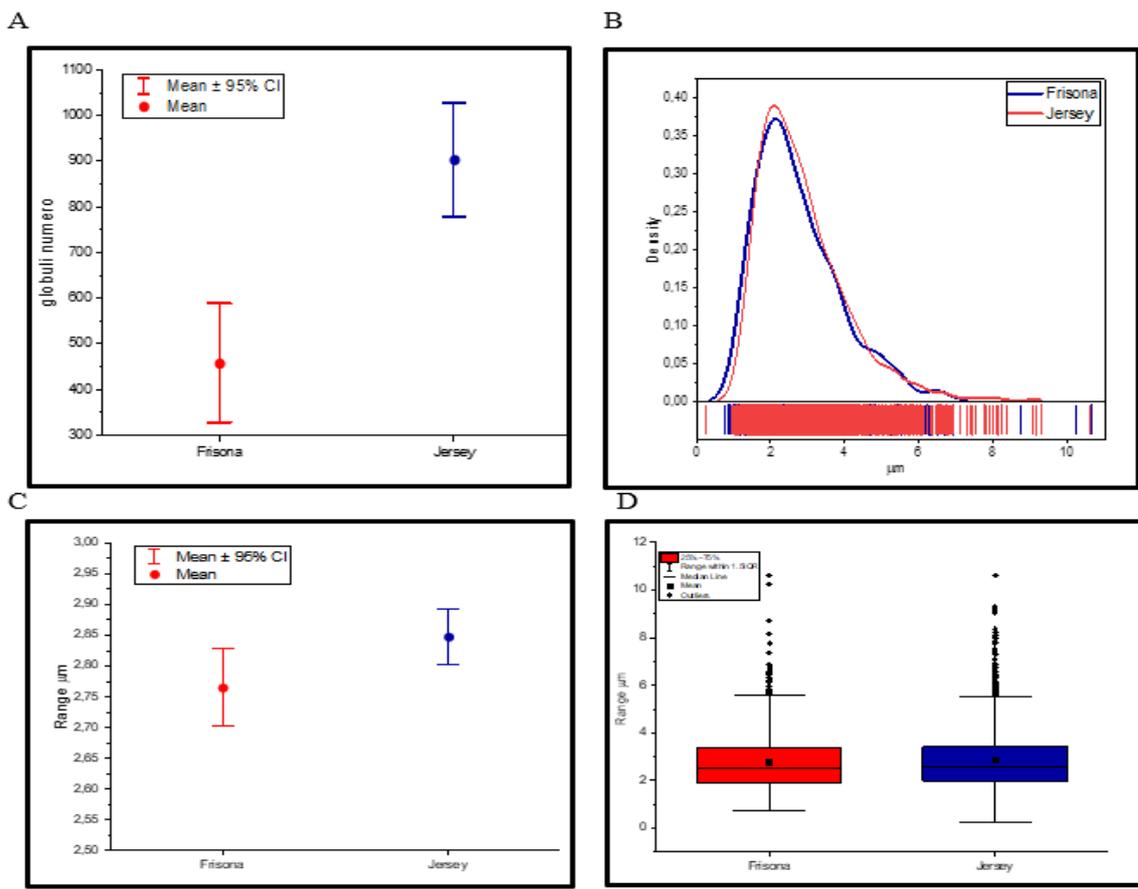


Figura 5: Analisi statistica, grazie al software ORIGIN PRO, eseguita sui dati ottenuti dalla digitalizzazione delle immagini dei globuli di grasso. A) numero di globuli per riquadro; B)

distribuzione delle dimensioni dei globuli di J e F; C) analisi statistica della dimensione dei globuli di J e F; D) box-plot e distribuzione delle dimensioni dei globuli di grasso.

Grazie ad un'opzione del software Axiovision, si è potuto misurare la dimensione dei globuli di grasso del latte F e J; come si evince dalla figura 5, le distribuzioni dei diametri dei due campioni sono quasi sovrapponibili con valore medio sui 2,85 μm . Da questa prima analisi si può dedurre che le dimensioni dei globuli sono molto simili tra i due campioni. Anche l'analisi statistica sul valore medio dei diametri e sulla variabilità non mette in evidenza differenze tra i globuli di grasso di J e di F (2,75 e 2,85 μm per J e F rispettivamente). Il dato viene confermato anche in seguito all'analisi boxplot (figura 5) in cui i valori medi, mediani e lo scarto interquartile sono molto simili tra loro. In definitiva, dall'analisi dei globuli di grasso dei due campioni di grasso si può concludere che la differenza tra i due campioni riguarda la numerosità degli stessi, maggiore nel campione J, mentre la dimensione è simile. I risultati qui riportati sono abbastanza in linea con la letteratura scientifica, anche se, come descritto da Czerniewicz et al (2006), i globuli di Jersey sono mediamente più grandi di quelli della Frisona. In ogni caso, la maggiore numerosità di globuli riscontrata nel latte di J potrebbe avere degli effetti sui parametri che analizziamo successivamente.

4.1.4 Analisi del colore

I campioni di latte sono stati sottoposti ad analisi colorimetrica. Come si evince dal grafico di figura 6, il parametro L^* risulta statisticamente più elevato per il campione di latte J e si aggira sui valori 88; il latte F presenta un valore più basso. Anche questo parametro, legato alla luminosità e al "bianco" del latte è in grado di discriminare i due campioni; il latte J è più bianco rispetto a quello di F. Se osserviamo il parametro colorimetrico " b^* ", notiamo che assume valori positivi in entrambe i campioni. Ciò significa che il colore punta verso il giallo; in particolare, il campione J risulta più giallo di F forse a causa della presenza maggiore di globuli di grasso (vedi analisi dei lipidi e dei globuli).

Il parametro " a^* ", relativo al colore verde (quando assume valori negativi), presenta valori prossimi allo zero; inoltre, i due campioni non differiscono significativamente tra di loro. Il parametro " C ", indicatore di saturazione cromatica, assume valori statisticamente più elevati in J; ciò potrebbe essere imputabile alla maggior presenza di proteine e lipidi che rendono il latte dalla colorazione più intensa. Il parametro " h^* " indica la tinta e, in questo caso, non sembra mettere in luce differenze tra i due campioni.

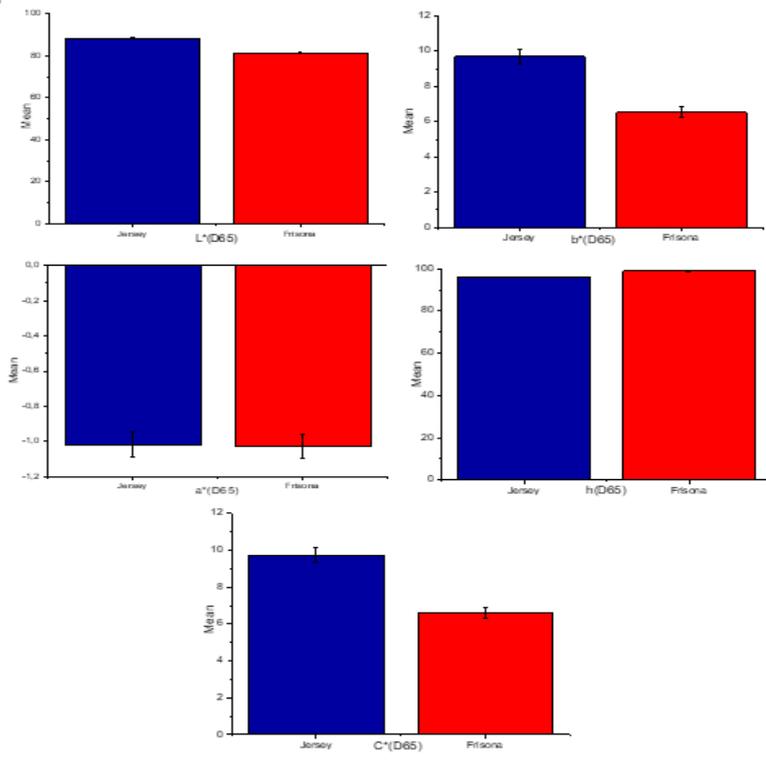
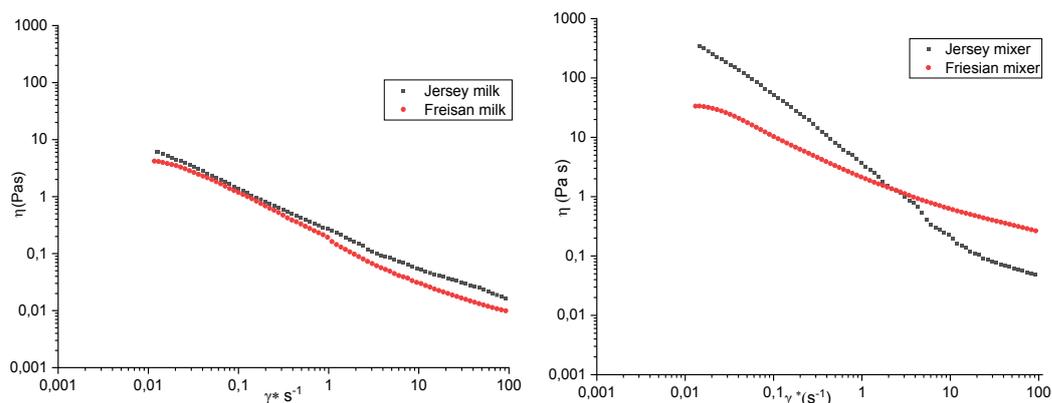


Figura 6: Risultati ottenuti col colorimetro sui campioni di latte J e F.

4.1.5 Comportamento reologico del latte e dei mixer



A

B

Figura 7: Comportamento reologico del latte (A) e del mixer di gelato (B). Le curve, in tutti i casi, sono state interpolate col modello di Cross. I dati del modello reologico sono riportati in tabella 3. Le prove sono state ripetute in triplo.

Tabella 3: Parametri reologici del modello di Cross adattato alle curve di Figura 7. Le prove sono state ripetute in triplo e i dati sono stati processati per mezzo del Tuckey test, $p < 0,05$.

| <i>Cross</i> | <i>J Milk</i> | <i>F Milk</i> | <i>J Mixer</i> | <i>F Mixer</i> |
|-------------------|---------------|---------------|----------------|----------------|
| <i>Parameters</i> | | | | |
| η_0 | 25,85±1,46 | 6,76±0,13 | 1784,39±134,14 | 58,88±1,81 |
| η_∞ | 0,025±0,003 | 0,018±0,004 | 0,01±20,17 | 0,64±0,079 |
| γ/γ_c | 324,045±32,49 | 48,49±2,03 | 258,92±25,05 | 35,78±2,58 |
| m | 0,83±0,007 | 0,98±0,0128 | 1,07±0,01 | 1,063±0,29 |
| R^2 | 0,999 | 0,999 | 0,999 | 0,998 |

Come si evince dalle curve di Figura 7 A, esse possono essere interpolate dal modello reologico di Cross, con R^2 pari a 0,999. La tendenza delle due curve è simile anche se il latte di J presenta un valore di η_0 più elevato rispetto al latte di F. Ciò può essere dovuto alla maggiore presenza di grassi che caratterizzano il latte di J, in termini di quantità che di numero di globuli di grasso (come osservato in precedenza). Infatti, come riportato da Nguyen (2016), la maggiore percentuale di grasso nel latte è responsabile di una maggiore viscosità. Come si evince dalla tabella 3, il valore γ/γ_c , particolarmente elevato nel campione di latte J, è dato da una maggiore consistenza del latte, attribuibile, non solo alla maggiore percentuale di grasso, ma anche alla più elevata presenza di sostanza secca (vedi sopra). (Lomolino et al, 2022).

4.1.6 Modulo viscoelastico

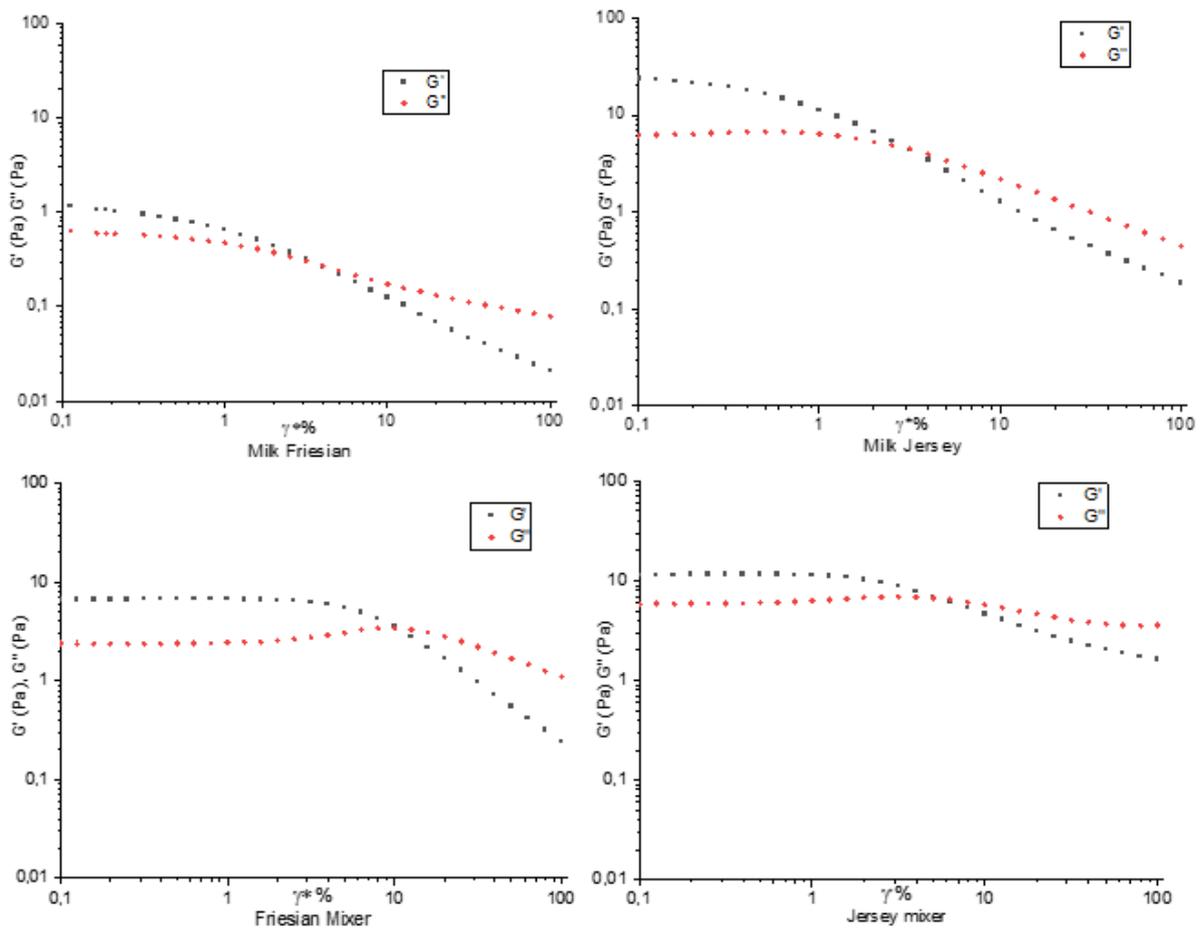


Figura 8: Modulo viscoso ed elastico dei campioni di latte e di mixer.

È stato eseguito lo studio reologico sui campioni di latte e di mixer di J e F, in particolare il modulo viscoso ed elastico per meglio caratterizzare i due campioni a confronto.

Come si osserva nella figura 8, il modulo elastico G' domina su quello viscoso G'' , rivelando la caratteristica viscoelastica della struttura dei due campioni di latte e dei mixer. In particolare, le proteine, caseine e sieroproteine, presenti in tutti i campioni partecipano al comportamento elastico, mentre la presenza di grassi è responsabile della viscosità. Se si osserva il comportamento dei due campioni di latte, il campione di F mostra le tendenze delle due curve molto più basso rispetto a quelle del latte di J. Ciò potrebbe essere attribuibile al maggiore contenuto proteico e lipidico del latte J che lo differenzia dall'altro.

Se si osservano invece le tendenze dei mixer, essi mostrano lo stesso comportamento reologico, anche se il mixer di J si mantiene stabile su valori più elevati di viscosità ed elasticità, a conferma di quanto osservato nei campioni di latte.

4.2 Analisi reologica del gelato

È stata eseguita l'analisi reologica sul prodotto "gelato solido"; in particolare, per questo studio si utilizza una sonda a cono in quanto è in grado di misurare la durezza e la spalmabilità quando viene applicata con una certa forza sul campione di gelato. Quando il cono viene estratto dalla matrice, invece, è in grado di rilevare l'adesività, come forza negativa che oppone resistenza al distacco dalla struttura in cui la sonda è immersa. Più negativo è il dato maggiore è l'adesività.

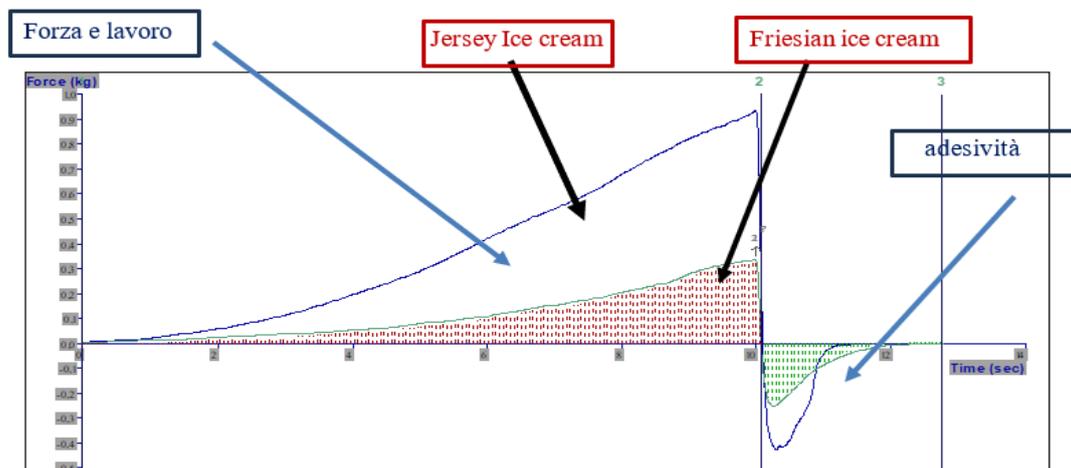


Figura 9: profilo forza/lavoro (valori positivi) e adesività (valori negativi) della sonda a cono quando viene impressa nella matrice di gelato. Il grafico riporta i due profili sovrapposti dei gelati di J e di F.

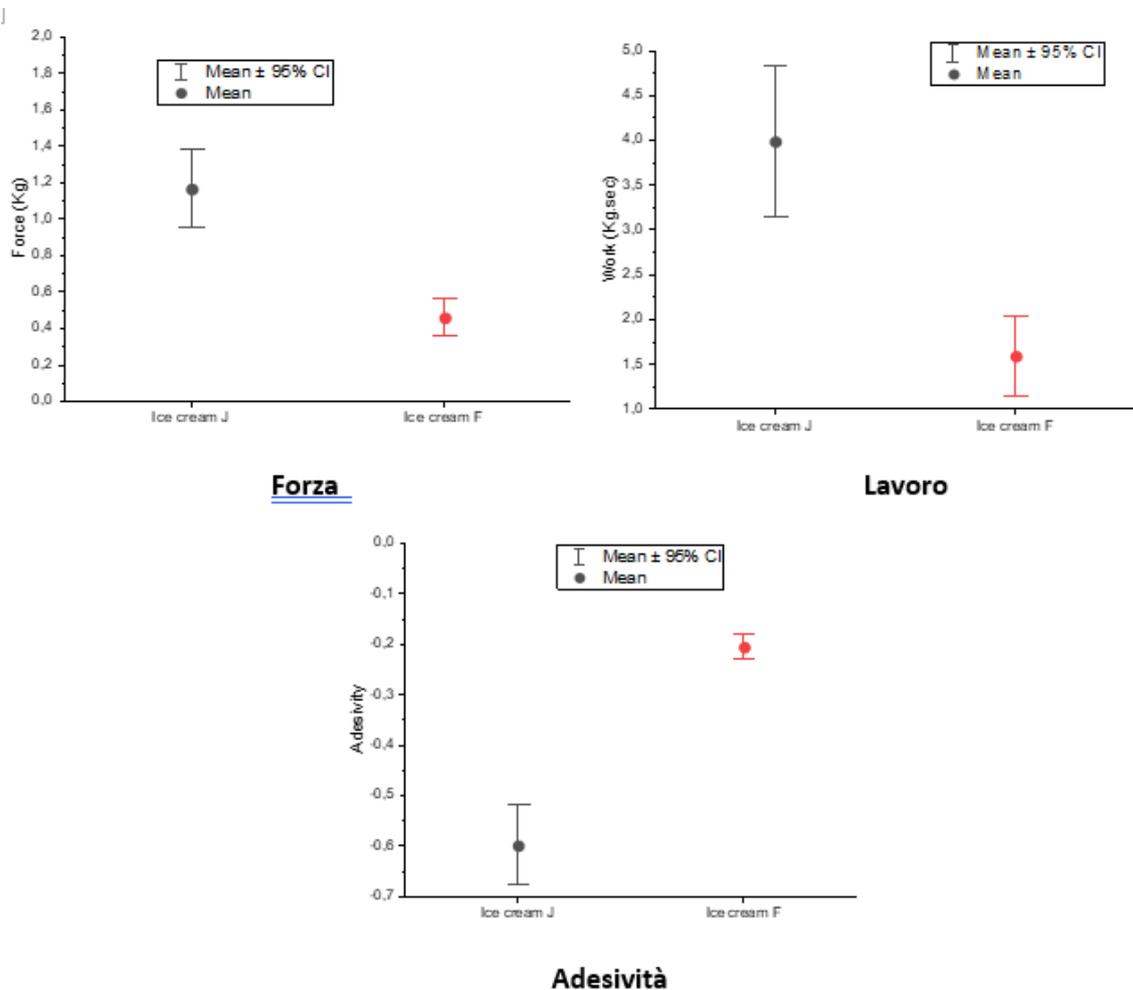


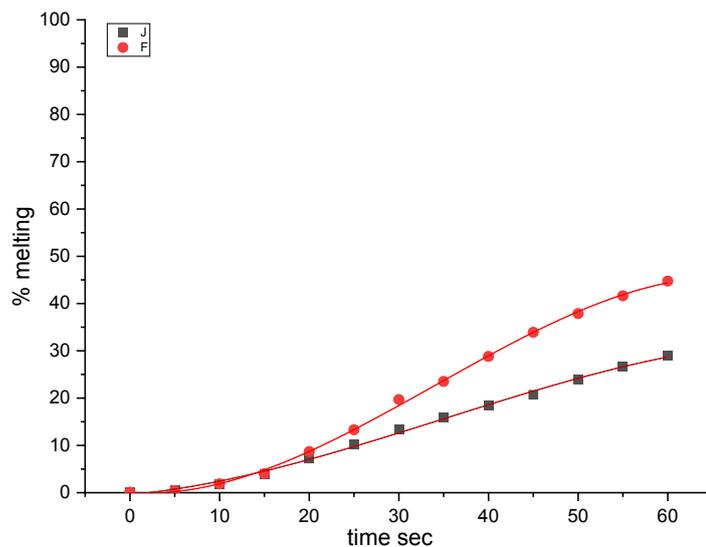
Figura 10: Analisi statistica dei dati ottenuti dall'analisi reologica sul gelato. Forza, Lavoro e Adesività. I risultati rappresentano la media di 9 ripetizioni. È stato eseguito il test di Tukey con $p < 0,05$.

I risultati reologici, ottenuti con la sonda a cono, sono riportati in figura 10; i grafici mostrano i valori medi della forza, del lavoro e dell'adesività. In particolare, come riportato in figura 10, la forza applicata al gelato J risulta maggiore e statisticamente diversa da quella del campione F, Lo stesso comportamento si presenta se consideriamo il lavoro della sonda quando viene applicata ai due campioni; questi, infatti, sono statisticamente diversi ed il lavoro impresso sul campione J risulta nettamente maggiore di F.

La diversa durezza, rilevata nei due campioni, potrebbe essere attribuita alla presenza di una struttura più coesa nel gelato J. Infatti, se consideriamo il latte di partenza, dalle analisi il campione J si presenta più ricco di proteine, grassi e ceneri, che nell'insieme rendono il prodotto più consistente. L'adesività (figura 10), espressa come resistenza al distacco della sonda, è superiore nel gelato J; in questo caso potrebbe essere proprio la maggiore presenza di proteina a rendere più adesivo il prodotto.

4.3 Melting Test

Figura 11: Melting test, test di scioglimento del gelato. I punti delle curve sono la media di 3 ripetizioni. Il modello che meglio interpola le curve è la polinomiale di terzo grado (vedi tabella e parametri riportati sotto).



| Parameters | Frisien | Jersey |
|-------------------------|---|---|
| Equation | $y = \text{Intercept} + B1*x^1 + B2*x^2 + B3*x^3$ | $y = \text{Intercept} + B1*x^1 + B2*x^2 + B3*x^3$ |
| Intercept | $0,00654 \pm 0,47534$ | $-0,41897 \pm 1,46428E-15$ |
| B1 | $-0,12385 \pm 0,07151$ | $0,17707 \pm 2,11457E-16$ |
| B2 | $0,03479 \pm 0,00284$ | $0,01209 \pm 8,19197E-18$ |
| B3 | $-3,39928E-4 \pm 3,10576E-5$ | $-1,15891E-4 \pm 8,97463E-20$ |
| Residual Sum of Squares | 2,79318 | 1,34E-25 |
| R-Square (COD) | 0,99913 | 1 |
| Adj. R-Square | 0,99884 | 1 |

I campioni di gelato sono stati sottoposti a test di scioglimento per comprendere la cinetica con cui il gelato fonde, caratteristica legata alla composizione chimica e al comportamento fisico del prodotto che influisce sulla struttura finale. Il melting test è un indicatore strutturale che permette di stabilire quali forze si oppongono allo scioglimento/collassamento del prodotto. Meno il gelato fonde e più forte è la struttura interna. Come si evince dal grafico di figura 11, le tendenze delle curve vengono interpolate con la funzione polinomiale di terzo grado, con R^2 pari a 0,99 per il gelato F e R^2 pari a 1 per il gelato J. La curva del gelato J segue un andamento più basso rispetto a F e ciò è indice di un minor scioglimento del prodotto. Infatti, come visto in precedenza, il gelato ottenuto con latte di J contiene più proteine, grassi e sostanza secca, composti che oltre ad aumentare la consistenza del prodotto, potrebbero interagire tra di loro creando una rete che ritarda il congelamento. Va da sé che il gelato J presenta una struttura più organizzata e stabile rispetto al gelato F.

4.4 Analisi sensoriale

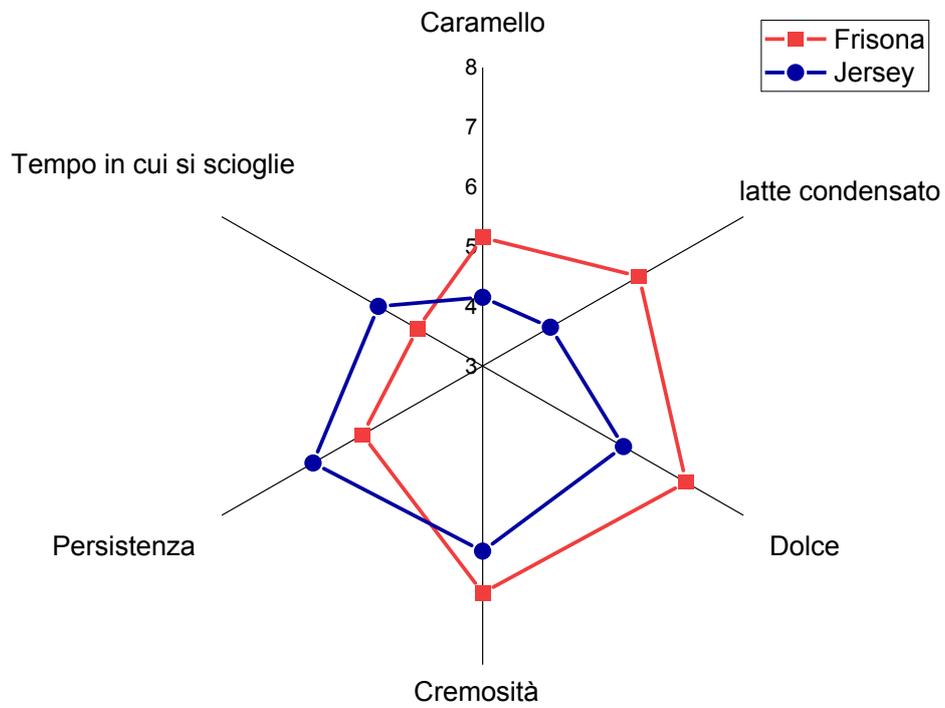
Analisi sensoriale, panel analitico

La figura 12 mostra i profili sensoriali dei gelati ottenuti con latte di J (indicato in blu) e di F (indicato in rosso). Come si evince dal grafico, il profilo sensoriale di F si presenta più ampio grazie ai valori parametri legati alla percezione dolce, caramello, latte condensato e cremosità che risultano più elevati rispetto al gelato J. Al contrario, il profilo del gelato J risulta più contenuto e spostato verso i parametri “persistenza” e “tempo di fusione” che risultano più alti rispetto all’altro gelato. I profili *spiderplot* sono in grado di “dare una forma” alla percezione sensoriale; tuttavia, non permettono di quantificare le differenze statistiche tra i campioni. Pertanto, sui valori ottenuti dall’analisi sensoriale del panel analitico è stata condotta un’analisi statistica inferenziale (ANOVA) e i dati riportati in figura 12. Come si evince dal grafico di Figura 12:

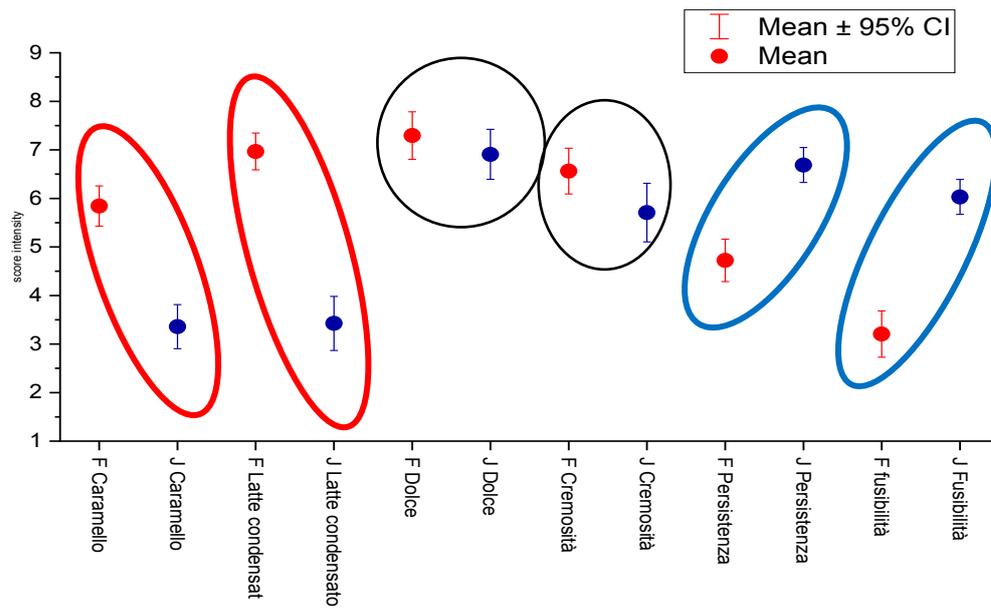
1. I sensori di caramello e latte condensato sono particolarmente presenti nel campione di gelato F e si aggirano attorno ai valori 6 e 7, rispettivamente per caramello e latte condensato. Al contrario gli stessi parametri sensoriali si aggirano attorno al valore 3 per il gelato ottenuto con latte J.
2. Il parametro “dolce” e “cremosità” non mostrano differenze significative tra i due campioni.

3. La persistenza gusto e il tempo di fusione del gelato sono nettamente superiori nel gelato J.

A.



B.



Analisi sensoriale, consumer test

I campioni di gelato J ed F sono stati valutati da un panel di 100 consumatori; è stato espresso un giudizio sui gelati che sono risultati per circa un 50% buoni, 33% e 35% ottimo il gelato F e J, rispettivamente. I giudizi negativi sono stati molto bassi, quasi irrilevanti e possono essere dovuti al gusto non apprezzato dal consumatore, a prescindere dalla qualità del prodotto. L'analisi statistica delle componenti principali indica che i campioni sono buoni e ottimi; inoltre, si distinguono nettamente: il gelato F si identifica per la nota di caramello e di latte condensato; il motivo potrebbe risiedere nella presenza di latte in polvere nella formulazione del gelato F. La cremosità è la caratteristica principale del gelato J, forse per la maggiore presenza di globuli di grasso, responsabili di questo sentore. Inoltre, il tempo di fusione, che risulta più lungo nel gelato J, è una sua caratteristica distintiva, dovuta alla maggiore concentrazione proteica, lipidica e di materia secca. Nel complesso i due gelati, J e F, sono stati molto graditi e si attestano tra i giudizi ottimo e buono.

C.

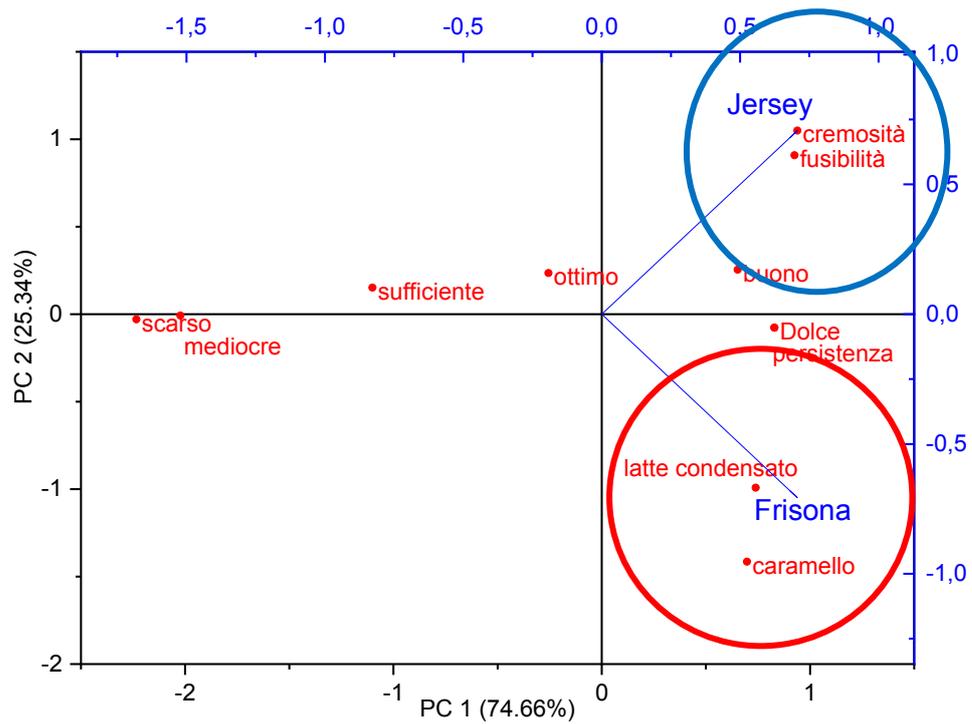


Figura 12 A: spider plot ottenuto con i dati dell'analisi sensoriale, QDA. **B:** Tukey test sui dati sensoriali analitici dei due gelati J e F ($p < 0,05$). **C:** Analisi delle componenti principali sulle caratteristiche del gelato e i giudizi espressi sui due campioni a confronto.

5. Conclusioni

Dalla ricerca svolta sui gelati ottenuti a partire da latte di Frisona, con caseina A1A2, e Jersey con caseina A2A2, si possono trarre le seguenti conclusioni:

- Le analisi sul latte mettono in luce alcune differenze tra i due campioni di partenza; infatti, il latte di J risulta più ricco di quello di F in termini di grassi, caseina e sostanza secca. È come se fosse più “concentrato”.
- L’analisi HPLC mostra la differenza dei due campioni di latte in termini di profili caseinici; sul campione di J è ben evidente il profilo della caseina A2A2, mentre in quello di F sono presenti i due picchi di caseina A1 e A2.
- Il profilo proteico generale (elettroforesi) non mostra invece differenze sostanziali tra i due campioni di latte.
- I globuli di grasso risultano nettamente superiori nel campione di latte di J anche se non c’è differenza statistica nella loro dimensione.
- Lo studio sulla struttura del latte fluido non evidenzia differenze tra i due campioni; mentre le stesse analisi condotte sui mixer mostrano comportamenti reologici diversi. Il mixer con latte di J presenta una viscosità più elevata.
- La struttura del gelato ottenuto con latte di J risulta più coesa, caratteristica messa in rilievo dall’analisi della texture. La durezza e l’adesività del gelato J sono caratteristiche distintive di questo prodotto.
- La coesione è messa in evidenza anche dal melting test che risulta rallentato nel gelato J. Infatti, la presenza di globuli di grasso e le caseine in maggiore concentrazione potrebbero essere responsabili della formazione di una struttura più coesa che limita lo scioglimento del gelato.
- L’analisi sensoriale, condotta col panel analitico riesce a distinguere i due gelati. Quello ottenuto a partire con latte di J risulta più consistente, persistente al gusto e più cremoso, caratteristiche attribuibili alla maggiore presenza di materia grassa. Quello ottenuto con F sa più di caramello e latte condensato per la presenza anche di latte in polvere nella formulazione.
- Nel complesso, il giudizio dei due gelati è stato buono/ottimo, e il prodotto ottenuto con latte di J risulta leggermente in vantaggio.

6. Bibliografia

Adams, c. (2014). Lion relaunch a bid to slow a2 growth. The new zealand herald. Auckland. 7th june 2014.

Adleman r., hartel r.w. (2001), lipid crystallization and its effect on the physical structure of ice cream. In: garti n, sato k (eds) crystallization processes in fats and lipid systems. Marcel dekker, new york, pp 381–427

Barnett, m.p.; mcnabb,w.c.; roy, n.c.;woodford, k.b.; clarke, a.j. Dietary a1 α -casein affects gastrointestinal transit time, dipeptidyl peptidase-4 activity, and inflammatory status relative to a2 α -casein in wistar rats. Int. J. Food sci. Nutr. 2014, 65, 720–727. [crossref] [pubmed]

Becker, a.; hempel, g.; grecksch, g.; matthies, h. Effects of beta-casomorphin derivatives on gastrointestinal transit in mice. Biomed. Biochim. Acta 1990, 49, 1203–1207. [pubmed]

Béri b. (2013): a koncentrált tej termelésének lehetősége és helyzete. Állattenyésztés és akarmányozás, 62, 4, 374-383

Bodnár á., prágai a., kovács a. (2012): a zebu (bos indicus) és keresztezési lehetőségei: a santa gertrudis kialakulása és használata egyes helyi fajták javításában. Animal welfare, etológia és tartástechnológia, 8, 1, 118-126.

Bodnár akos, adél hajzser, istván egerszegi, péter pótil, jan kuchtík, ferenc pajor. A2 milk and its importance in dairy production and global market, bodnár et al. / aweth vol 14.1. (2018)

Bolliger s., goff h.d., tharp b.w. (2000) correlation between colloidal properties of ice cream mix and ice cream. Int dairy j 10:303–309

Boutrou, r.; gaudichon, c.; dupont, d.; jardin, j.; airinei, g.; marsset-baglieri, a.; benamouzig, r.; tomé, d.; leonil, j. Sequential release of milk protein-derived bioactive peptides in the jejunum in healthy humans. Am. J. Clin. Nutr. 2013, 97, 1314–1323. [crossref] [pubmed]

Brantl, v. Novel opioid peptides derived from human beta-casein: human beta-casomorphins. Eur. J. Pharmacol. 1984, 106, 213–214. [crossref]

Brooke-taylor s, dwyer k, woodford k, kost n. Systematic review of the gastrointestinal effects of a1 compared with a2 2 compared wadv nutr. (2017) 8:739–48. Doi: 10.3945/an.116.013953

Cani, p.d.; bibiloni, r.; knauf, c.; waget, a.; neyrinck, a.m.; delzenne, n.m.; burcelin, r. Changes in gut microbiota control metabolic endotoxemia-induced inflammation in high-fat diet-induced obesity and diabetes in mice. *Diabetes* 2008, 57, 1470–1481. [crossref] [pubmed]

Caviezel luca (1986), *scienza e tecnologia del gelato artigianale*, chiriotti editori

Czernowitz maria, katarzyna kielczewska, antoni kruk; comparison of some physicochemical properties of milk from holstein-friesian and jersey cows. *Polish journal of food and nutrition sciences* 2006, vol. 15/56, si 1, pp. 61–64

Daniel, h.; vohwinkel, m.; rehner, g. Effect of casein and beta-casomorphins on gastrointestinal motility in rats. *J. Nutr.* 1990, 120, 252–257. [pubmed]

Daniloski d, cunha nmd, mccarthy na, otides, technological traits, cows'milk t. Health-related outcomes of genetic polymorphism of bovine beta-casein variants: a systematic review of randomised controlled trials. *Trends food sci technol.* (2021) 111:233–48. Doi: 10.1016/j.tifs.2021.02.073

De noni, i. Release of β -casomorphins 5 and 7 during simulated gastro-intestinal digestion of bovine β -casein variants and milk-based infant formulas. *Food chem.* 2008, 110, 897–903. [crossref] [pubmed]

De noni, i.; cattaneo, s. Occurrence of β -casomorphins 5 and 7 in commercial dairy products and in their digests following in vitro simulated gastro-intestinal digestion. *Food chem.* 2010, 119, 560–566. [crossref]

De noni, r.j.; fitzgerald, h.j.t.; korhonen, y.; le roux, c.t.; livesey, i.; thorsdottir, d.; tomé, r.w. Scientific report of efsa prepared by a datex working group on the potential health impact of β -casomorphins and related peptides. *Efsa sci. Rep.* 2009, 231, 1–107.

Defilippi, c.; gomez, e.; charlin, v.; silva, c. Inhibition of small intestinal motility by casein: Eds.; vch weinheim: new york, ny, usa, 1994; pp. 155–160.

Efsa. Review of the potential health impact of beta-casomorphins and related peptides. *Efsa j.* (2009) 7:231. Doi: 10.2903/j.efsa.2009.231r gastrointestinal transit time, dipeptidyl peptidase-4 activity, and inflammatory status relative to α_2 gastrointestinal transit via reduction of opioid receptor agonists released from casein in rats. *Biol.*

Giovanna lomolino,1alberto de isepi,*1stefano bravo,2mara vegro,1matteo marangon,1antonella crapisi1and andrea curioni1 effect of vacuum application on the physical,

rheological and sensory characteristics of an artisanal ice cream vol 76, no 2 may 2023
international journal of dairy technology doi: 10.1111/1471-0307.12928

Goff h.d., hartel r.w. - ice cream - (7th ed.), springer, new york (2013).

H. B. Jensen, n. A. Poulsen, k. K. Andersen, m. Hammershøj, h. D. Poulsen, and l. B. Larsen.
Distinct composition of bovine milk from jersey and holstein-friesian cows with good, poor, or
noncoagulation properties as reflected in protein genetic variants and isoforms j. Dairy sci.
95 :6905–6917 [http://dx.doi.org/ 10.3168/jds.2012-5675](http://dx.doi.org/10.3168/jds.2012-5675)

Hamosh, m.; hong, h.; hamosh, p. Beta-casomorphins: milk- κ -casein derived opioid peptides.
In textbook of gastroenterology and nutrition in infancy, 2nd ed.; leenthal, e., ed.; raven press:
new york, ny, usa, 1989; pp. 143–150.

Holló i., szabó f. (2016): szarvasmarhatenyésztés, pp. 73 – 79.

Janer, c.; arigoni, f.; lee, b.h.; peláez, c.; requena, t. Enzymatic ability of bifidobacterium
animalis subsp. Lactis to hydrolyze milk proteins: identification and characterization of
endopeptidase o. Appl. Environ. Microbiol. 2005, 71, 8460–8465. [pubmed]

jarmolowska, b.; sidor, k.; iwan, m.; bielikowicz, k.; kaczmarek, m.; kostyra, e.; kostrya, h.
Changes of κ -casomorphin content in human milk during lactation. Peptides 2007, 28, 1982–
1986.

Jinsmaa, y.; yoshikawa, m. Enzymatic release of neocasomorphin and κ -casomorphin from
bovine beta-casein. Peptides 1999, 20, 957–962. [crossref]

Kamiński s, cieślińska a, kostyra e. Polymorphism of bovine beta-casein and its potential
effect on human health. J appl genet. (2007) 48:189–98. Doi: 10.1007/bf031 95213

Kaminski s., cieslinska a., kostyra e. (2007): polymorphism of bovine beta casein and its
potential effect on human health. Journal of applied genetics, 48, 3, 189-98.

Koch, g.; wiedemann, k.; teschemacher, h. Opioid activities of human beta-casomorphins

Kuellenberg de gaudry d, lohner s, bischoff k, schmucker c, hoerrlein s, roeger c, et al. A1- and
a2 beta-casein on health-related outcomes: a scoping review of animal studies. Eur j nutr. (2022)
61:1–21. Doi: 10.1007/s00394-021-02551-x

Küllenberg de gaudry d, lohner s, schmucker c, kapp p, motschall e, hörlein s, et al. Milk a1 b-casein and health-related outcomes in humans: a systematic review. *Nutr rev.* (2019) 77:278–306. Doi: 10.1093/nutrit/nuy063

Lang, m.e.; davison, j.s.; bates, s.l.; meddings, j.b. Opioid receptors on guinea-pig intestinal crypt epithelial cells. *J. Physiol.* 1996, 497, 161–174. [crossref] [pubmed]

Mihatsch, w.a.; franz, a.r.; kuhnt, b.; hogel, j.; pohlandt, f. Hydrolysis of casein accelerates

Muse m r and hartel r w (2004) ice cream structural elements that affect melting rate and hardness. *Journal of dairy science* 87:1–10

Muse m.r., hartel r.w. (2004), ice cream structural elements that affect melting rate and hardness. *J dairy sci* 87:1–10

Naunyn schmiedebergs arch. Pharmacol. 1985, 33, 351–354. [crossref]

Nguyen, d.d.; solah, v.a.; johnson, s.k.; charrois, j.w.; busetti, f. Isotope dilution liquid chromatography-tandem mass spectrometry for simultaneous identification and quantification of beta-casomorphin 5 and beta-casomorphin 7 in yoghurt. *Food chem.* 2014, 146, 345–352. [crossref] [pubmed]

Ooi, t. (2011): a2 deal has milk pouring into uk. *The Australian*, 16 november 2011. P. 41 our farmers (2014): a2 milk company (<https://a2milk.co.uk/our-farmers/>), 2014

Phuong t.m. Nguyen, bhash bhandari, sangeeta prakash, tribological method to measure lubricating properties of dairy products, *Journal of food engineering* 168 (2016) 27–34

Pleuvry, b.j. Opioid receptors and their ligands: natural and unnatural. *Br. J. Anaesth.* 1991, 66, 370–380. [crossref] [pubmed]

Schulte-frohlinde, e.; schmid, r.; brantl, v.; schusdziarra, v. Effect of bovine β -casomorphin-4-amide on gastrointestinal transit and pancreatic endocrine function in man.

Sebely pal, keith woodford, sonja kukuljan and suleen ho. Milk intolerance, beta-casein and lactose. *Nutrients* 2015, 7, 7285-7297; doi:10.3390/nu7095339

Stampanoni koeflerli c. R., piccinali p., sigrist s. (1996), the influence of fat, sugar and non-fat milk solids on selected taste, flavor and texture parameters of a vanilla ice-cream, food quality and preference, volume 7, issue 2, pages 69-79,

Tsevdou m., gogou e., dermesonluoglu e., katsaros g., taoukis p. (2013), application of oscillatory thermo-rheometry to model the effect of variable cold chain condition on vanilla ice-cream quality. 2nd iir international conference on sustainability and the cold chain

Wada, y.; lonnerdal, b. Bioactive peptides released from in vitro digestion of human milk with or without pasteurization .pediatr. Res. 2015,77,546-553.

Wasilewska, j.; kaczmarek, m.; kostyra, e.; iwan, m. Cow's-milk-induced infant apnoea with increased serum content of bovine β -casomorphin-5. J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr. 2011, 52,

Woodford, k. (2011): milk proteins and human health: a1 versus a2 beta-casein. General practitioners conference, sydney, 22 may 2011.