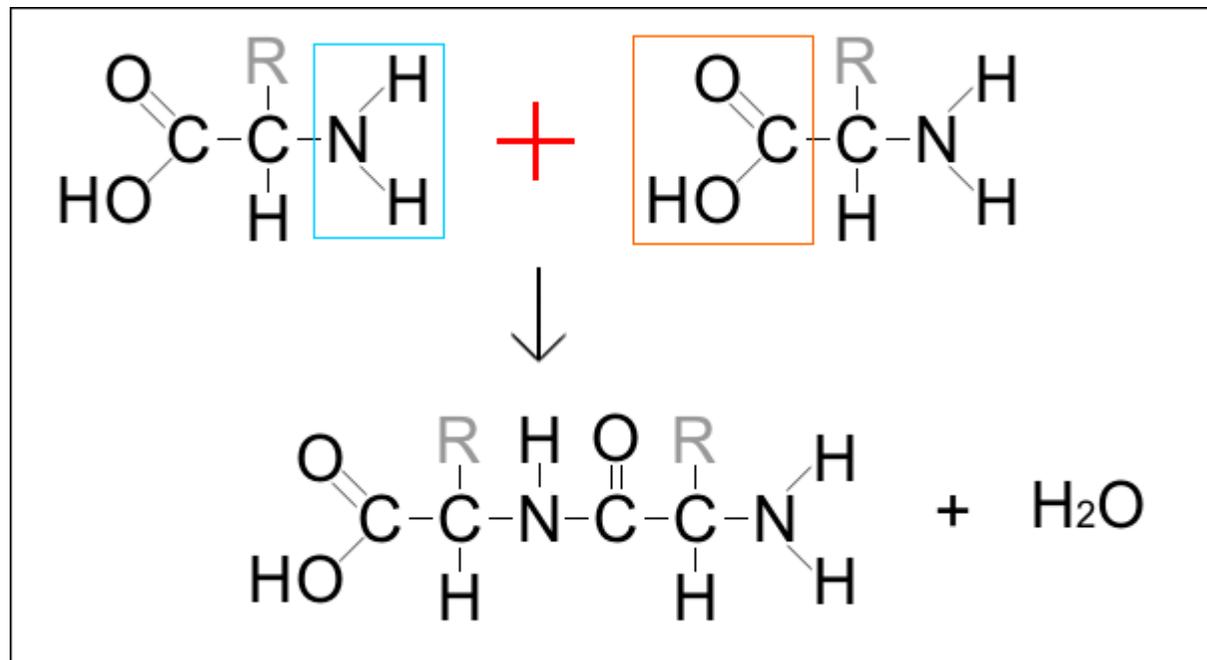


Coagulanti vegetali e altro

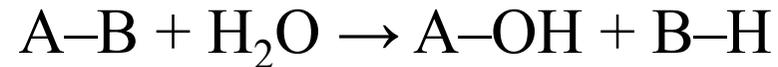
ZEPPA G.
Università degli Studi di Torino



Le proteine sono costituite da una catena di aminoacidi ossia di molecole organiche che nella loro struttura hanno sia il gruppo funzionale amminico (delle ammine) (-NH₂) sia quello carbossilico (degli acidi carbossilici) (-COOH). Queste molecole vengono unite mediante un processo di condensazione (unione con perdita di una molecola di acqua) in cui il gruppo amminico di un aminoacido reagisce con il gruppo carbossilico di un altro.



Per la scissione di una proteina serve una idrolasi, ossia un enzima che catalizza una reazione del tipo



Gli enzimi (dal greco εν ξυμη = fermento dentro) chiamati così da Bukhner nel 1896 sono proteine fondamentali nell'ambito biologico.

L'attività di un enzima è influenzato da:

- Temperatura: la T ottimale dipende dall'enzima; se >60-70 °C si disattivano
- pH : dipende dall'enzima
- Concentrazione substrato : se aumenta, aumenta la velocità
- Concentrazione enzima
- Cofattori
- Prodotti reazione

Gli enzimi sono classificati mediante un numero EC (Enzyme Commission).
La classificazione EC prevede 6 gruppi di enzimi.

Gruppo	Reazione catalizzata	Reazione tipica	Enzimi tipici (nome comunemente usato)
EC 1 <i>Ossidoreduttasi</i>	Reazioni di ossidoriduzione ; trasferimento di atomi di idrogeno e di ossigeno , o di elettroni da una molecola a un'altra	$AH + B \rightarrow A + BH$ (ridotta) $A + O \rightarrow AO$ (ossidata)	Deidrogenasi, ossidasi
EC 2 <i>Transferasi</i>	Trasferimento di un gruppo funzionale da un substrato a un altro. Può trattarsi, ad esempio, di un gruppo metilico , aminico , fosfato .	$AB + C \rightarrow A + BC$	Transaminasi, chinasi
EC 3 <i>Idrolasi</i>	Formazione di due prodotti a partire da uno attraverso una idrolisi	$AB + H_2O \rightarrow AOH + BH$	Lipasi, amilasi, proteasi
EC 4 <i>Liasi</i>	Addizione o rimozione non-idrolitica di gruppi funzionali dal substrato. Possono essere rotti legami C-C, C-N, C-O o C-S	$RCO_2COOH \rightarrow RCO_2H + CO_2$	Decarbossilasi
EC 5 <i>Isomerasi</i>	Riarrangiamento intramolecolare, come la modificazione di conformazione di una molecola in seguito a reazioni di isomerizzazione	$AB \rightarrow BA$	Isomerasi, mutasi
EC 6 <i>Ligasi</i>	Unione di due molecole attraverso la costituzione di nuovi legami covalenti di tipo C-O, C-S, C-N o C-C, con la rottura simultanea di ATP	$X + Y + ATP \rightarrow XY + ADP + P_i$	Sintetasi, polimerasi

Ogni enzima è caratterizzato da 4 numeri separati da punti che classificano l'enzima

Es. l'enzima tripeptide aminopeptidasi ha il codice "EC 3.4.11.4":

EC 3: enzimi della famiglia delle idrolasi, enzimi che usano una molecola di acqua per rompere altre molecole (il primo numero identifica la reazione catalizzata dall'enzima);

EC 3.4: idrolasi che agiscono su un legame peptidico (il secondo numero identifica il tipo di substrato);

EC 3.4.11: idrolasi che agiscono solo sull'amminoacido N-terminale di un peptide (il terzo numero identifica il tipo di substrato);

EC 3.4.11.4: idrolasi che agiscono solo sull'amminoacido N-terminale di un tripeptide (il quarto è un numero d'ordine e segna l'ordine di scoperta degli enzimi)

La classificazione degli enzimi mediante numero EC inserisce le **idrolasi** nella categoria **EC 3**. Esistono inoltre 13 ulteriori sottoclassi, costituite in base al tipo di legame idrolizzato dall'enzima.

EC 3.1: idrolizza legami estere (esterasi);

EC 3.2: idrolizza legami zuccherini (glicosilasi);

EC 3.3: idrolizza legami etere;

EC 3.4: idrolizza legami peptidici (proteasi o peptidasi)

EC 3.5: idrolizza legami carbonio-azoto (e altri legami peptidici);

EC 3.6: idrolizza legami anidridici;

EC 3.7: idrolizza legami carbonio-carbonio;

EC 3.8: idrolizza legami di alogenuri;

EC 3.9: idrolizza legami fosforo-azoto;

EC 3.10: idrolizza legami zolfo-azoto;

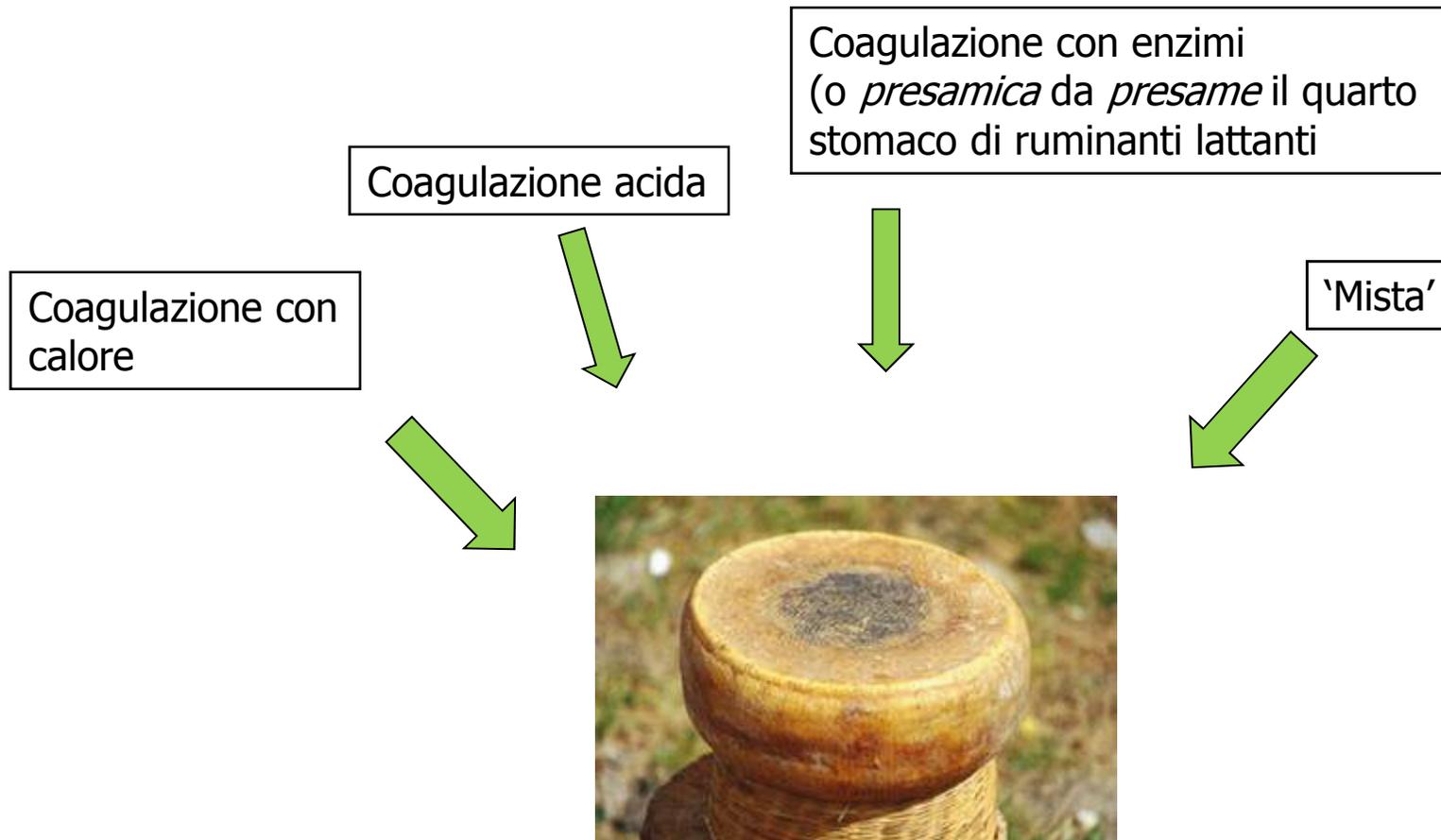
EC 3.11: idrolizza legami fosforo-carbonio;

EC 3.12: idrolizza legami zolfo-zolfo;

EC 3.13: idrolizza legami zolfo-carbonio;

Con il termine proteasi (o proteinasi, peptidasi, enzima proteolitico) si indica un enzima che sia in grado di catalizzare la rottura del legame peptidico tra il gruppo amminico e il gruppo carbossilico delle proteine. Esistono oltre 170 proteasi.

Fra queste la **chimosina EC 3.4.23.4**



Coagulazione con calore

- Tecnica poco utilizzata, in cui si usano anche l'acidità e piccole quantità di caglio
- Le proteine del siero si denaturano, poi si aggregano
- Gli aggregati formano complessi con le caseine → coprecipitati
- $T > 85\text{ °C}$; $t > 5\text{ minuti}$; acidi → resa $> 20\%$
- Esempi il Cacioricotta, il Queso Blanco

Coagulazione acida

- La caseina si agglomera a pH di 5.3-5.2 → punto isoelettrico 4.6
- Si utilizzano temperature medie (circa 30 °C)
- L'acidificazione provoca solubilizzazione del calcio, destrutturazione delle micelle e formazione di nuovi legami
- Si ottiene l'acidificazione per aggiunta di acidi o sviluppo batterico
- Il coagulo è un aggregato di proteine insolubilizzate con legami idrofobici → coagulo fragile
- Importante il contenuto proteico (> proteine > consistenza → usare retentati) e pH (pH isoelettrico 4.6 a 20 °C; 5.2 a 40 °C)
- Velocità di acidificazione bassa per un coagulo strutturato
- Tipica di formaggi freschi

Tipologie di caglio

- ✓ Di origine animale
 - Caglio di vitello (chimosina 90-95%; pasta, polvere o liquido; titolo 10.000-150.000)
 - Caglio di bovino adulto (pepsina)
 - Caglio di agnello (chimosina 75%; in genere in pasta; titolo 10.000; usato per il Pecorino Romano DOP)
 - Caglio di camoscio (chimosina 75%; pasta o liquido; titolo 10.000; usato per Puzone di Moena)
 - Caglio di capretto (chimosina 75%; pasta, polvere o liquido; titolo 10.000; usato per Provolone Valpadana DOP)
 - Caglio di maiale (pepsina; liquido; titolo 10.000, usato per Pecorino di Farindola)
 - Pepsina di pollo

- ✓ Di origine microbica-fungina
 - Aspartil-proteasi da *Mucor miehei*, *Mucor pusillus*, *Endothia parasitica*
 - Chimosina da *Kluyveromyces fragilis*

- ✓ Di origine vegetale
 - Coagulanti da cardo, carciofo, ananas, girasole, fico, papaia etc..

- ✓ Di origine genetica microbica (da DNA ricombinato)

Caglio animale

- Si ottiene in genere dall'abomaso di ruminanti lattanti
- Produzione:
 - ✓ congelamento e salatura abomasi
 - ✓ scongelamento e lavaggio per eliminare il sale
 - ✓ pulitura e taglio pellette
 - ✓ triturazione
 - ✓ lavaggio a ph 5.2 con sale ed antisettici (**caglio in pasta**)
 - ✓ pressatura
 - ✓ separazione a freddo con allume e sale
 - ✓ centrifugazione – filtrazione
 - ✓ concentrazione per ultrafiltrazione o evaporazione sottovuoto (**caglio liquido**)
 - ✓ precipitazione enzimi per aggiunta sali
 - ✓ ridissoluzione e filtrazione
 - ✓ essiccamento (**caglio in polvere**)



- ❖ Enzimi proteolitici del caglio
 - ✓ Chimosina o Chimasi o Rennina (EC 3.4.23.4) – Attività massima a pH 5.5; T ottimale circa 40 °C; T denaturazione 52 °C a pH 6.65 – 59 °C a pH 6.45 (ne rimane anche nei formaggi a pasta cotta); proteolisi scarsa (non agisce su peptidi <1400 Daltons)
 - ✓ Pepsina (EC 3.4.23.1) – Prodotta dall'abomaso ma anche da mammiferi monogastrici; agisce nella fase terziaria con elevata attività proteolitica (circa 45 volte la chimosina)
- ❖ Gli enzimi proteolitici vengono secreti principalmente dall'abomaso e dal pancreas (pancreatina, un complesso enzimatico non usato in casearia)
- ❖ Nella regione pre-gastrica si produce la lipasi → agisce a pH bassi quindi si degrada nello stomaco → è presente mescolata alla poppata
- ❖ Sino a quando l'animale mangia latte il rapporto chimosina:pepsina è di 2:1/3:1
- ❖ Con lo svezzamento rimane solo la pepsina

Classificazione cagli

❖ Titolo

- mL di latte coagulati da 1 mL di caglio a 35 °C in 40 min → problemi di comparazione
- RU (Rennet Units) o IMCU (International Milk Clotting Units) : attività coagulante necessaria per coagulare in 100 sec 10 mL di substrato costituito da latte in polvere (bassa temperatura) ricostituito al 10.7% (p/p) in una soluzione acquosa 0.01 molare di cloruro di calcio ad un pH di 6.35

❖ Composizione

Rapporto fra chimosina e pepsina (80:20; 90:10 ecc)

❖ Tipologie

- ✓ *Liquido → stabile, titolo 1:5000 – 1:20000*
- ✓ *In polvere → molto concentrato, titolo >100.000*
- ✓ *In pasta → da capretto od agnello, titolo 1:5000 – 1:15000*

Fattori importanti per la scelta del caglio

- Rapporto fra attività proteolitica specifica (quella coagulante) e generica
- Velocità delle due reazioni
- Attività residua

Coagulanti microbici

Ottenuti per estrazione da substrati culturali di fermentazione

- *Mucor miehei* → proteasi → più attiva della chimosina → resiste sino a pH 9 e T 65 °C → viene resa termolabile per evitare residui nei formaggi
- *Mucor pusillus* → proteasi → più attiva della chimosina
- *Endothia parasitica* → proteasi aspecifica più attiva della chimosina e delle altre due proteasi

Hannilase	<i>M. mihei</i>
Rennilase	<i>M. mihei</i>
Fromase	<i>M. mihei</i>
Miki	<i>M. mihei</i>
Marzyme	<i>M. mihei</i>
Novadel	<i>M. pusillus</i>
Noury	<i>M. mihei</i>
Meito	<i>M. mihei</i>

Emporase	<i>M. mihei</i>
Supraren	<i>E. parasitica</i>
Sure curd	<i>E. parasitica</i>
Mikrozyme	<i>B. subtilis</i>
Chymogen	<i>A. niger</i>
Chy-Max	<i>E. coli</i>
Maxiren	<i>Klyveromyces lactis</i>

Coagulazione del latte

Coagulazione acida/lattica

Micella di caseina allo stato
di sol (fosfocaseinato di Ca)
--> caseina + $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$

—————→
pH 4.6

Caseina demineralizzata
allo stato di gel -->
coagulo

+

Sali solubili

Coagulazione presamica

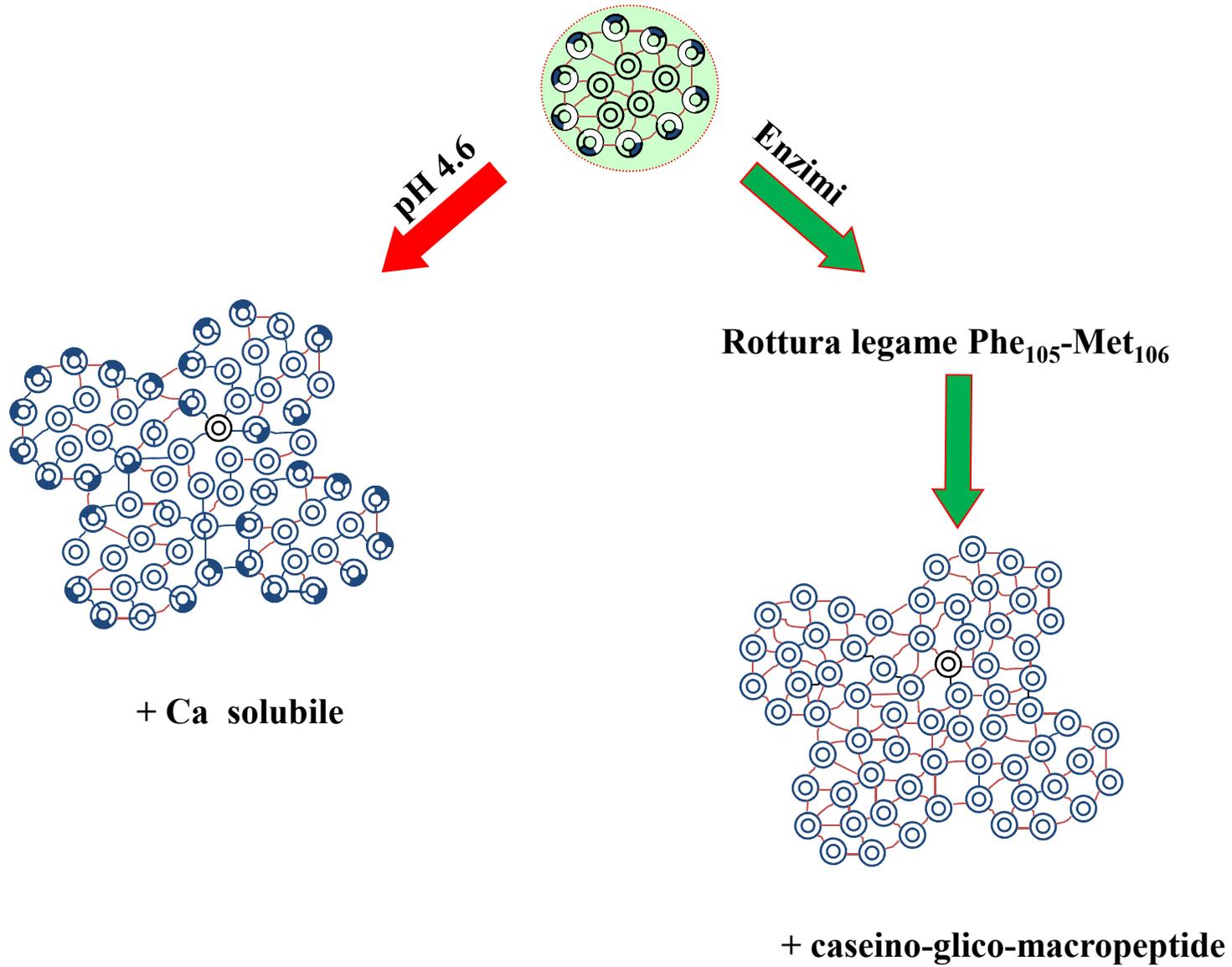
Micella di caseina allo stato
di sol (fosfocaseinato di Ca)
--> caseina + $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$

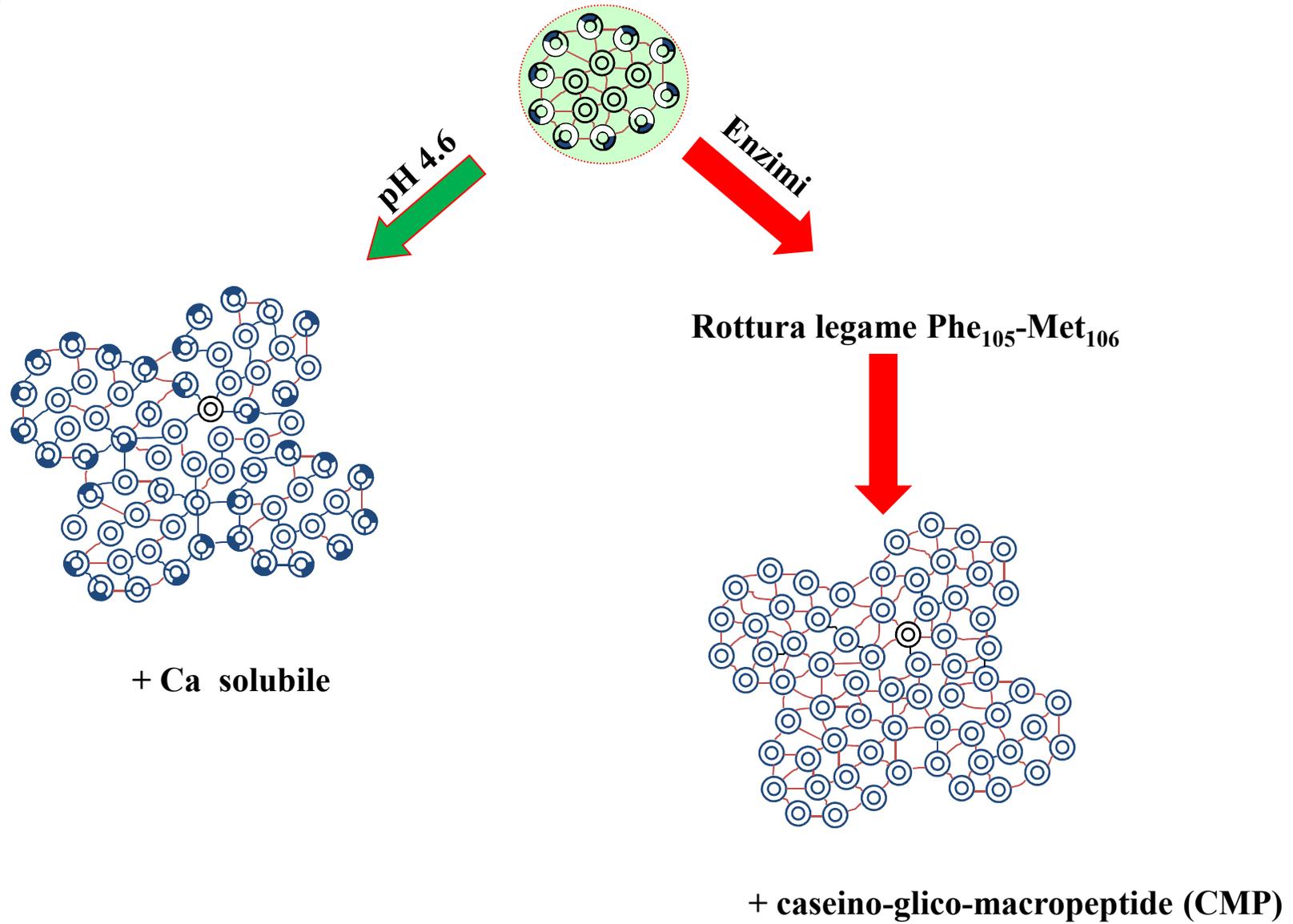
—————→

Parafosfocaseinato
di calcio allo stato
di gel --> coagulo

+

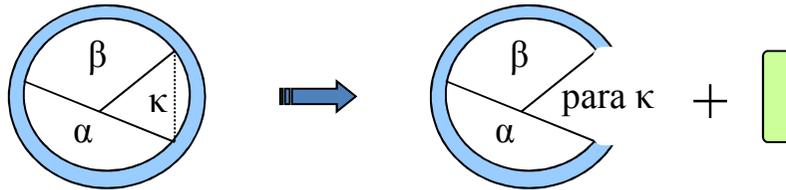
Sostanze solubili





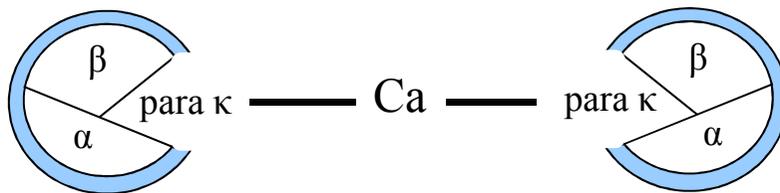
Coagulazione presamica

Fase primaria o enzimatica



Caseina-K + Enzima \rightarrow Rottura legame Phe105-Met106 \rightarrow Paracaseina-K (1-105) + caseinoglicomacropeptide (106-169)

Fase secondaria



Fase terziaria

Idrolisi delle caseine

Coagulo lattico

- Basso contenuto in sali di calcio
- Friabile
- Poco consistente
- Poco elastico
- Morbido con scarso spurgo
- In genere potenziato con caglio : coagulazione mista
- Ottima per formaggi caprini

Coagulo presamico

- Elevato contenuto in sali di calcio
- Consistente
- Scarso contenuto in siero → limitato sviluppo batterico → sapore dolce
- Coagulo poco permeabile → spurgo provocato (pressatura etc.)
- Il 12-15% del caglio è trattenuto nei formaggi a pasta pressata cotta ed il 30-50% nei formaggi a pasta molle e pasta pressata

		Coagulo acido	Coagulo presamico
Preparazione		Acidificazione lenta (tempo 3-24 h)	Addizione enzima (tempo <1 h)
Struttura	Legami	elettrostatici	Ionici, ponti calcio, ponti disolfuro
Caratteristiche	Consistenza	nulla	forte
	Elasticità	nulla	forte
	Friabilità	massima	scarsa
	Permeabilità	elevata	media
	Contrattilità	molto debole	elevata

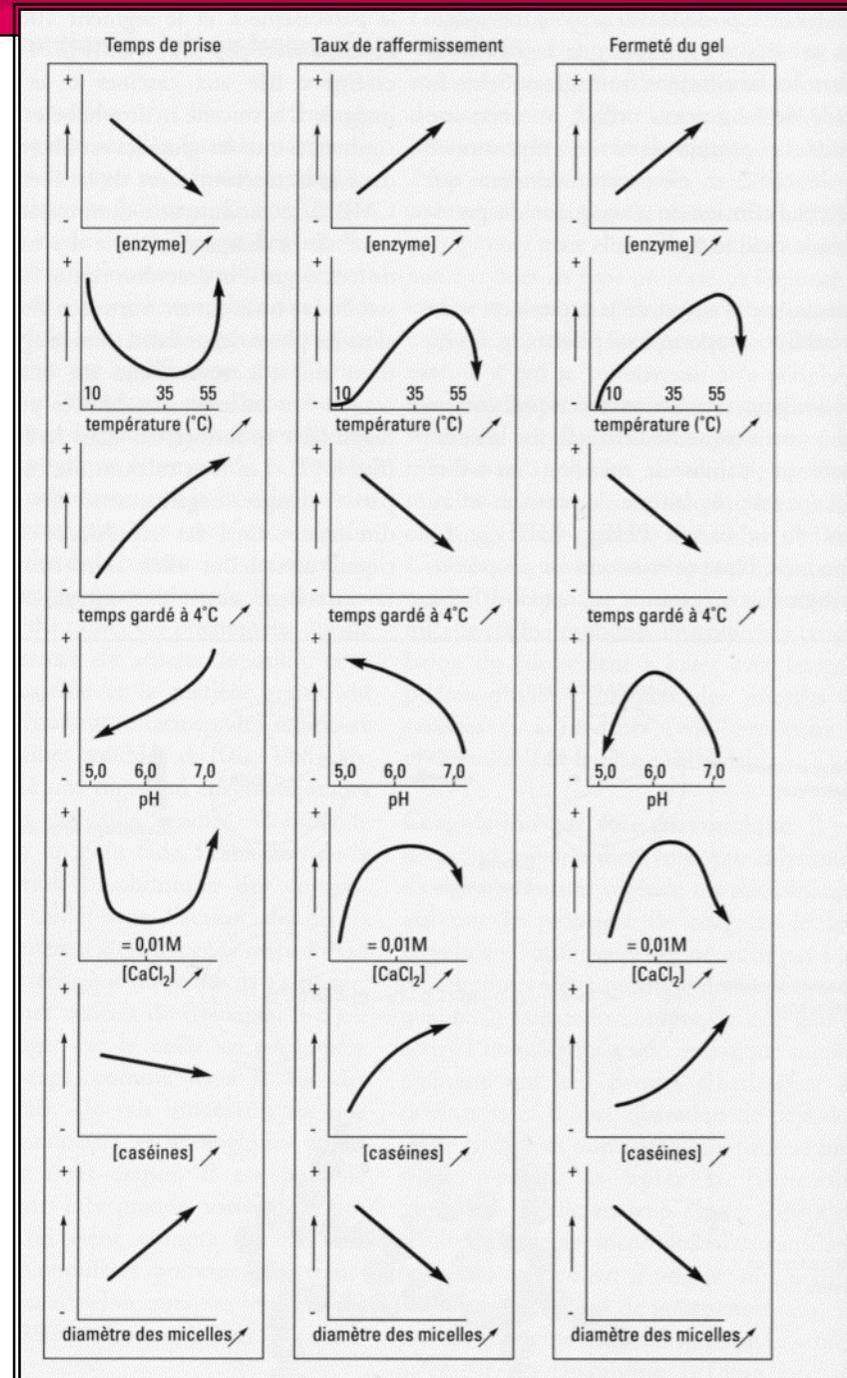
Parametri di coagulazione

- ☛ Tempo di presa (tempo di flocculazione) → dall'aggiunta del caglio alla comparsa dei primi flocculi
- ☛ Tempo di rafferimento o rassodamento → dai flocculi al gel compatto ed omogeneo

Fattori influenti sull'attività del caglio

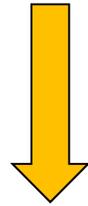
- Concentrazione caglio → se aumenta, coagulazione veloce e coagulo compatto ed elastico → amaro ?
- Temperatura → ottimale 40-42 °C; nessuna attività a 10-15 °C e oltre 55 °C
- pH → pH bassi favoriscono l'azione della chimosina (se il pH passa da 6.6 a 6.4 l'attività raddoppia) → cagliata più elastica → se $\text{pH} < 6.0$ friabilità → usare GDL (gluconodeltalattone) o CO_2 o sieroproteine acide
- Concentrazione caseina
- Concentrazione calcio → aggiunta di 5-20 g/hL di CaCl_2 (E509)

Fattori che influenzano la coagulazione



Problemi dei cagli animali

- Prezzo elevato
- Disponibilità limitata di stomaci di ruminanti
- Problemi religiosi (Islamici – Ebrei)
- Diete vegetariane
- Divieto di uso di cagli ricombinanti (Francia, Germania, Olanda)



Cagli vegetali



Proteasi	Aminoacido del sito attivo	Nome	Sorgente
Aspartica	Acido aspartico	Cardosina A/B Cyprosina A/B	Cynara cardunculus var. sylvestris (cardo selvatico)
		Cynarasi A/B/C	Cynara cardunculus subsp. scolymus (carciofo)
		Cynarasi simile	Cynara humilis
		Estratto proteine	Silybum marianum (cardo mariano)
		Onopordosina	Onopordum acanthium (cardo asinino)
		Protein extract	Onopordum turcicum
		Orizasina	Oryza sativa
		Protein extract	Centaurea calcitrapa (fiordaliso stellato)
		Procirsina	Cirsium vulgare (cardo asinino)
		Protein extract	Solanum elaeagnifolium (Morella a foglie d'Eleagno)

Proteasi	Aminoacido del sito attivo	Nome	Sorgente
Cisteina	Cisteina	Ficina	Ficus racemosa
		Protein extract	Ficus carica sylvestris
		Protein extract	Albizia lebeck
		Protein extract	Helianthus annuus
		Actinidina	Actinidia chinensis

Proteasi	Aminoacido del sito attivo	Nome	Sorgente
Serina	Serina	Curcumisina	Cucumis melo
		Nerifoglina Nerifoglina S	Euphorbia neriifolia
		Dubiumina	Solanum dubium
		Religiosina Religiosina B Religiosina C	Solanum religiosum
		Streblina	Streblus asper
		Lectucina	Lactuca sativa

Proteasi	Aminoacido del sito attivo	Nome	Sorgente
Non specificata	--	Hieronimaina	Bromelia hieronymi
		Protein extract	Moringa oleifera

Bromelia hieronymi



Tipica del Sud America, simile alla Yucca, usata per la fibra e per le proprietà medicinali

Moringa oleifera

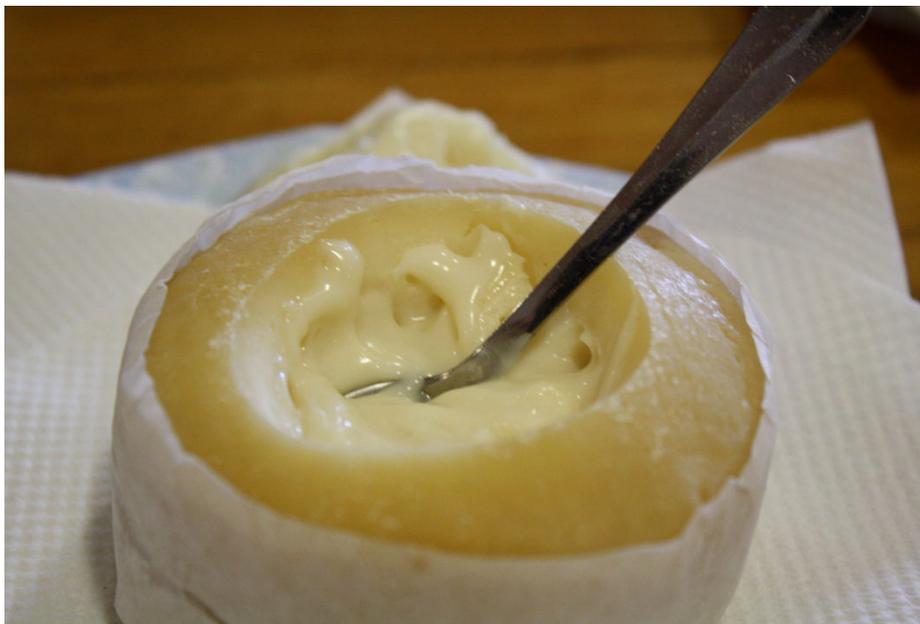


Pianta della zona tropicale, è tutta commestibile. Le foglie sono ricche in proteine (25% in peso), le radici sanno di rapanello, i semi sono come ceci

Coagulante da *Cynara* sp.

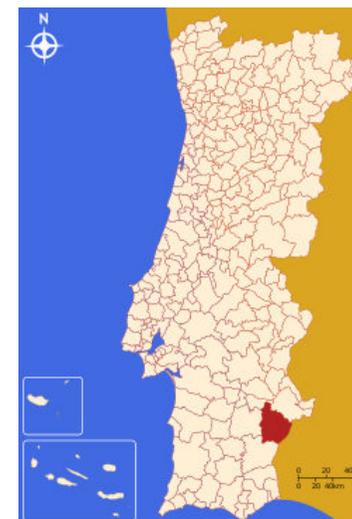
Serra de Estrela (Portogallo)

- ✓ Formaggio pecora dalla omonima regione
- ✓ Latte crudo
- ✓ 1-6 mesi stagionatura



Serpa (Portogallo)

- ✓ Formaggio pecora dalla città di Serpa nella regione di Alentejo
- ✓ Latte crudo di pecore Lacaune
- ✓ 2 mesi stagionatura
- ✓ Avvolto in telo per la forma e tenere l'umidità



Queijo de Nisa (Portogallo)

- ✓ Formaggio pecora dalla regione di Alentejo
- ✓ Latte crudo
- ✓ Trattato con olio



Los Pedroches (Spagna)

- ✓ Formaggio pecora Merinos nel comune di Los Pedroches in provincia di Córdoba
- ✓ Latte crudo
- ✓ Trattato con olio



La Serena (Spagna)

- ✓ Formaggio pecora Merinos nel distretto di La Serena (Estremadura)
- ✓ Latte crudo
- ✓ Minimo 66 gg stagionatura



Torta del Casar (Spagna)

- ✓ Formaggio pecora Merinos dell'area della Estremadura
- ✓ Latte crudo
- ✓ Minimo 60 gg stagionatura



Los Ibores (Spagna)

- ✓ Formaggio di capra (Serrana, Verata, Retinta) nell'area della Estremadura
- ✓ Latte crudo
- ✓ Trattato con olio o pepe in stagionatura (min 60 gg)



Flor de Guia (Spagna)

- ✓ Formaggio misto di pecora (min 60%), vacca (max 40%) e capra nell'isola della Gran Canaria, dall'area di Santa Maria de Guia
- ✓ "Flor de Guía" : solo infiorescenza cardo
- ✓ "Half Flor de Guía" : 50% infiorescenza cardo + 50% infiorescenza carciofo
- ✓ "Guía cheese" : vegetale + caglio agnello
- ✓ Dimensioni 4-8 cm di altezza, 20-30 cm diametro
- ✓ Latte crudo
- ✓ Stagionatura min 15 gg sino oltre 60 gg
- ✓ Trattato con olio in esterno



Coagulante da *Calotropis procera*

- ✓ Mela di Sodoma (i frutti sono vuoti e se toccati si rompono dando solo polvere)
- ✓ Gli estratti ottenuti dalle foglie sono usati in Nigeria e Benin per produrre formaggio (il Wara in Nigeria; il Woagachi in Benin)
- ✓ Formaggi freschi con 12-15 ore di riposo in acqua fredda e salamoia



Coagulante da *Solanum dubium*

- ✓ E' una Solanacea; si usa un estratto ottenuto dai semi essiccati
- ✓ Gli estratti sono usati in Sudan per produrre da latte misto il Gibna Bayda



... e la ricerca ?

Table 1

Milk-clotting activity (MCA) and proteolytic activity (PA) of chymosin and plant extracts.

Coagulant	Milk-clotting activity (U mg ⁻¹)	Proteolytic activity (U mg ⁻¹)		Ratio MCA/PA	
		Substrate		Substrate	
		BSA	Casein	BSA	Casein
Chymosin	182.3	0.09	0.35	2003	520
Kiwi	2.7	0.09	0.55	30	5
Ginger	2.3	0.11	0.73	21	3.2
Melon	1.5	0.37	0.90	4	2.5

*Values are the mean obtained from three determinations performed in triplicated for each fresh plant extract.

Table 2

Curd yield and fine loss in the whey during cheese-making using chymosin and plant extracts.

Coagulant	Yield curd (%)	Moisture (%)	% Solids in whey	Clotting temperature (°C)
Chymosin	20.2 ± 2.7 ^A	69.14 ± 1.7 ^A	6.57 ± 0.09 ^A	34
Kiwi	17.8 ± 1.6 ^{Ab}	67.71 ± 2.4 ^A	7.16 ± 0.23 ^b	40
Melon	15.1 ± 0.9 ^B	66.20 ± 2.2 ^A	7.93 ± 0.24 ^b	40
Ginger	15.4 ± 1.9 ^b	62.24 ± 2.8 ^b	7.50 ± 0.7 ^b	63

*Values with different superscript letters within the same column are different ($P < 0.05$). Values are the mean ± standard deviation, $n = 8$.

Table 3

Effect of type of coagulant on curd texture profile analysis (TPA).

Coagulant	Hardness (N)	Cohesiveness	Springiness (mm)	Chewiness (mj)
Chymosin	5.52 ± 0.85 ^A	0.349 ± 0.03 ^{AA}	6.38 ± 0.45 ^A	122 ± 13.2 ^A
Kiwi	6.19 ± 1.63 ^A	0.328 ± 0.04 ^A	7.10 ± 1.08 ^A	135 ± 55.4 ^A
Ginger	4.71 ± 1.90 ^{Ab}	0.336 ± 0.05 ^A	6.40 ± 2.01 ^A	109 ± 51.3 ^A
Melon	1.97 ± 0.60 ^B	0.267 ± 0.04 ^A	3.26 ± 1.09 ^b	15.5 ± 3.13 ^b

*Values with different superscript letters within the same column are different ($P < 0.05$). Values are the mean ± standard deviation, $n = 8$. Seven measurements were carried out on each miniature cheese curd.

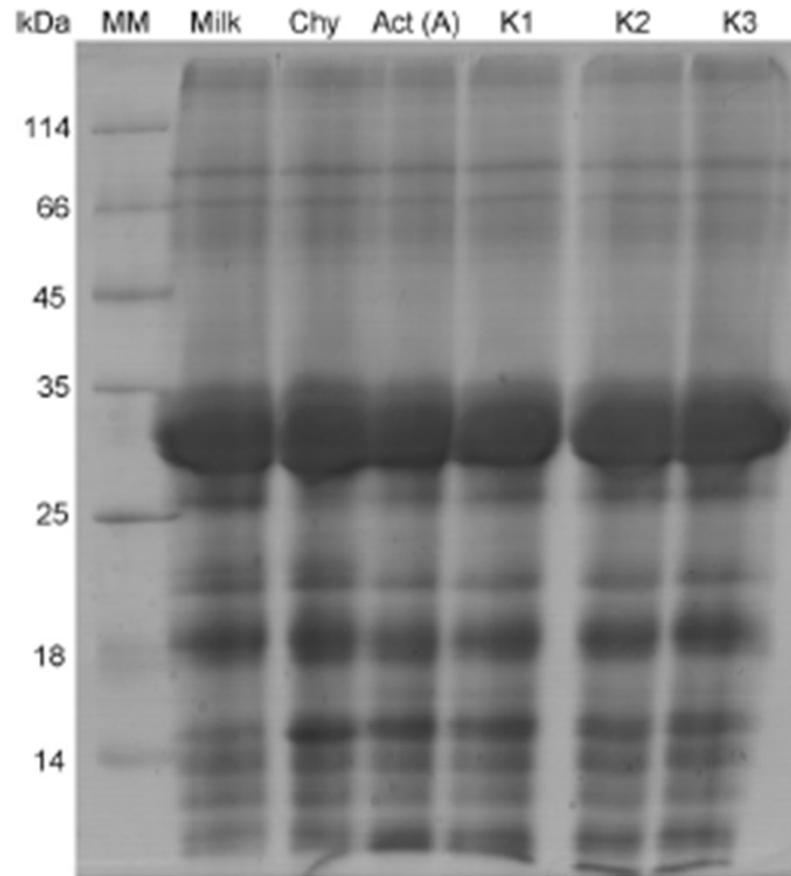


Fig. 4. SDS-PAGE analysis of proteolytic activity on total milk (concentration of active enzyme in all samples was 0.2 mg mL^{-1}): MM, molecular markers; milk, untreated bovine milk; Chy, milk hydrolysed with chymosin; Act (A), milk hydrolysed with purified actinidin; K1, milk hydrolysed with kiwifruit extract prepared with citrate buffer, pH 5.0; K2, milk hydrolysed with kiwifruit extract prepared with phosphate buffer, pH 7.0; K3, milk hydrolysed with kiwifruit extract prepared with bicarbonate buffer, pH 9.0.

Comparison of the milk-clotting properties of three plant extracts

Food Chemistry 141 (2013) 1902–1907

Table 2
Clotting properties of calf rennet, cardoon extract, ficin and papain solutions in regular and ultrafiltered bovine skim milk

Clotting properties ^a	Coagulant ^b	Milk substrates ^c			
		Regular	1 × UF	2 × UF	4 × UF
CT (min)	Calf	27.3 ± 0.6 ^c	25.3 ± 0.6 ^d	26.7 ± 0.6 ^c	19.7 ± 0.6 ^e
	Cardoon	28.7 ± 0.6 ^c	27.3 ± 0.6 ^c	29.3 ± 0.6 ^f	19.7 ± 0.6 ^e
	Ficin	21.5 ± 0.6 ^g	21.6 ± 0.3 ^g	22.0 ± 0.5 ^g	19.7 ± 0.6 ^e
	Papain	12.7 ± 0.6 ^h	8.7 ± 0.6 ⁱ	27.0 ± 1.0 ^c	20.7 ± 0.6 ^e
<i>A</i> ₂₀ (GU)	Calf	41.0 ± 1.1 ^c	37.6 ± 1.2 ^d	30.0 ± 0.0 ^e	30.0 ± 0.0 ^e
	Cardoon	41.7 ± 0.4 ^c	38.1 ± 0.3 ^d	30.0 ± 0.0 ^e	30.0 ± 0.0 ^e
	Ficin	44.6 ± 0.5 ^f	47.0 ± 0.6 ^g	30.9 ± 0.1 ^e	30.0 ± 0.0 ^e
	Papain	54.9 ± 0.2 ^h	30.0 ± 0.0 ^e	30.0 ± 0.0 ^e	30.0 ± 0.0 ^e
CFR (GU min ⁻¹)	Calf	0.58 ± 0.1 ^c	0.8 ± 0.2 ^d	1.8 ± 0.1 ^e	2.3 ± 0.2 ^f
	Cardoon	0.57 ± 0.0 ^c	0.8 ± 0.0 ^d	1.7 ± 0.1 ^e	2.2 ± 0.2 ^f
	Ficin	N/A	N/A	1.8 ± 0.2 ^e	1.9 ± 0.2 ^e
	Papain	N/A	1.9 ± 0.2 ^e	1.7 ± 0.1 ^e	2.9 ± 0.4 ^g

^aAbbreviations are: CT—clotting time; *A*₂₀—curd firmness at 20 min after commencement of clotting; GU—gelograph units; CFR—curd firming rate.

^bSee Table 1 for amount of coagulant used per milk sample.

^cResults are mean values of triplicate experiments with standard deviation. Values of the same parameter (clotting properties) without a common superscript differ significantly ($P < 0.05$); N/A: not available (firmness did not reach 30 GU).

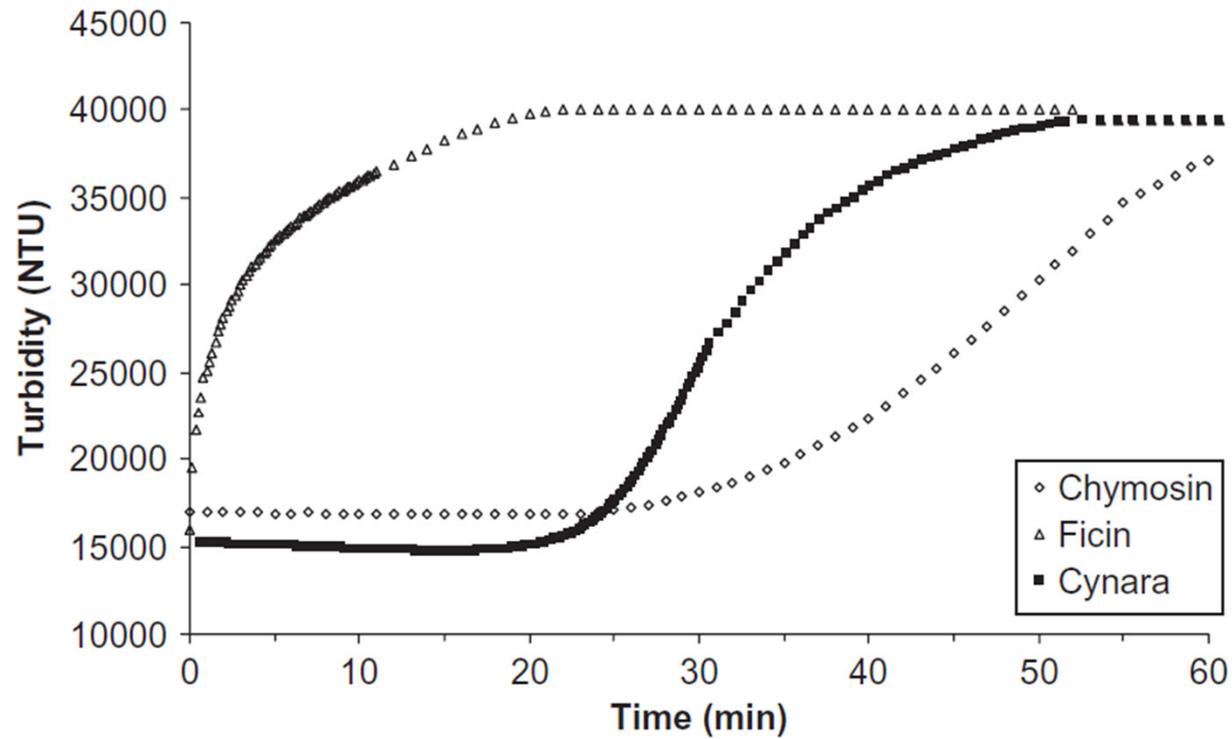


Figure 1 Change of milk turbidity with time during coagulation.

...per concludere...



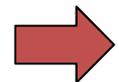
Cynara cardunculus



Cardo mariano



Pianta con portamento vigoroso, usata per il trattamento delle affezioni a carico del fegato



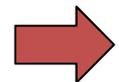
Onopordum acanthium



Fiordaliso stellato



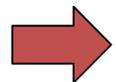
Pianta erbacea biennale alta 15-50 cm diffusa in tutta Italia; fiori roseo-purpurini



Cirsium vulgare



Solanum elaeagnifolium



Ficus racemosa

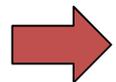


Pianta di alto fusto diffusa in Asia
Usata in cucina e per la medicina popolare

Albizia lebbek



Fabacea di alto fusto, simile all'acacia



Euphorbia neriifolia

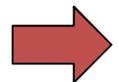


Pianta grassa asiatica con
ampi usi medicinali con
attività antiossidanti,
antibatteriche

Solanum dubium



Pianta tipica del Sudan



Solanum religiosum



Streblus asper



Tipica del sud est asiatico, il legno ha attività antibatterica

