

| | |
|---|-----------|
| ABSTRACT..... | 3 |
| PARTE GENERALE | 5 |
| PREMESSA..... | 6 |
| 1.1. ZOOTECNIA DA LATTE E PRINCIPALI RAZZE DA LATTE NEL RAGUSANO | 7 |
| 1.2. BREVE DESCRIZIONE DELLA RAZZA FRISONA, BRUNA E MODICANA | 10 |
| 2. IL LATTE DI VACCA..... | 17 |
| 2.1. GENERALITÀ' | 17 |
| 2.2. FATTORI CHE INFLUENZANO LA QUALITÀ | 18 |
| 2.2.1. FATTORI ENDOGENI..... | 19 |
| 2.2.2. FATTORI ESOGENI | 20 |
| 2.3. SECREZIONE E COMPOSIZIONE CHIMICA | 22 |
| 2.4. GLUCIDI..... | 27 |
| 2.4.1. IL LATTOSIO | 28 |
| 2.5. FRAZIONE PROTEICA | 29 |
| 2.5.1. CASEINE..... | 29 |
| 2.5.2. SIEROPROTEINE..... | 30 |
| 2.6. VITAMINE..... | 30 |
| 2.6.1. VITAMINA E | 31 |
| 2.6.2. β-CAROTENE..... | 36 |
| 2.7. FRAZIONE LIPIDICA..... | 39 |
| 3. ALIMENTAZIONE DELLA VACCA AL PASCOLO | 44 |
| 3.1. INGESTIONE E QUALITÀ' DEL PASCOLO | 44 |
| 3.2. RIFLESSI NEGATIVI LEGATI AL PASCOLAMENTO | 47 |
| 3.3. VANTAGGI DEL PASCOLO | 50 |
| 3.4. ESSENZE E SPECIFICITÀ' DEL PASCOLO RAGUSANO..... | 52 |
| 3.5. INFLUENZA DEL PASCOLO SULL'AMBIENTE E SUL LATTE | 56 |
| 3.6. EFFETTO DEL PASCOLO SUL CLA..... | 58 |

| | |
|---|-----------|
| PARTE SPERIMENTALE | 60 |
| 4. INTRODUZIONE..... | 61 |
| 5.1. SCELTA DELLE AZIENDE E DISEGNO SPERIMENTALE | 63 |
| 5.2. DURATA E DATE DEGLI ESPERIMENTI E RILIEVI..... | 63 |
| 5.3. ANALISI DEL LATTE | 64 |
| 5.4. PASCOLO E ALIMENTI ZOOTECNICI | 65 |
| 5.4.1. ANALISI DI LABORATORIO..... | 67 |
| 5.4.2. TRATTAMENTO DEI DATI E ANALISI STATISTICA | 68 |
| 5.5. ANALISI DEI COMPOSTI VOLATILI E DELLE COMPONENTI PRINCIPALI (PCA) ALLO SMART NOSE | 69 |
| 5.5.1. SMART NOSE | 69 |
| 5.5.2. ANALISI ALLO SMART NOSE..... | 71 |
| 5.5.3. TRATTAMENTO DEI DATI E ANALISI STATISTICHE | 72 |
| 5.6. DETERMINAZIONE NEL LATTE DI β -CAROTENE E VITAMINA E 72 | |
| 5.6.1. TRATTAMENTO DEI DATI E ANALISI STATISTICHE | 73 |
| 6. RISULTATI E DISCUSSIONI..... | 74 |
| 6.1. PASCOLO E INTAKE | 74 |
| 6.2. β -CAROTENE E VITAMINA E..... | 76 |
| 6.3. COMPONENTI VOLATILI..... | 80 |
| 7. CONCLUSIONI..... | 86 |
| BIBLIOGRAFIA | 88 |

ABSTRACT

The aim of this study was to evaluate the effect of pasture feeding and cow's breed on milk volatiles "fingerprint" and to examine the effects of pasture feeding and dairy cattle breed on fat-soluble antioxidant, vitamin content in milk.

Four Sicilian dairy farms were selected, two with both Holsteins and Brown Swiss cows and two with only local breed Modicana cows. Bulk milk of each breed per farm was sampled four times per experimental period (spring, summer, and autumn). Samplings within period occurred with weekly intervals. Pasture was available in spring and autumn but not in summer. Spring and autumn differed by botanical composition and plant maturity. During summer cows were grazing stubble. Additional hay and concentrate was supplemented during all periods. Milk samples were analyzed by SMart Nose®: data were statistically evaluated by Principal Component Analysis. Volatiles profiles of samples from spring and autumn compared to summer were discriminated, but not between spring and autumn. There was less variation in volatiles during autumn compared to spring. Milk volatile profiles collected at the last sampling day (spring), except for volatiles composition from Modicana milk, were similar to all samples from summer. At this day, plants were mature and almost dry and chemical composition might have been similar to stubble composition. In all periods, also when pasture was not available during summer, volatiles composition of Modicana milk was different from Holsteins and Brown Swiss milk. Differences during spring and autumn might be explained, at least in part, by the higher average pasture intake of Modicana relative to the Brown Swiss and Holsteins.

Pasture benefits relative to vitamin content milk content might be obtained only after a minimum necessary exposure period of cows to pasture. Milks from Modicana had the same levels of β -carotene of Brown Swiss compared to Holsteins cows, whereas significant higher levels of α -tocopherol of Modicana relative to Brown Swiss and Holsteins. As a difference to Holsteins and Brown Swiss cows who had similar feeding regimen, Modicana cows had significant

higher pasture intake. Differences in vitamin content contents in milk from Modicana relative to Brown Swiss and Holsteins cows cannot be exclusively explained by breed effects but may mainly be attributed to different levels of pasture intakes.

PARTE GENERALE

PREMESSA

L'attuale e delicato momento che sta attraversando la zootecnia da latte è sempre più caratterizzato dalla necessità di portare al mercato un prodotto di altissima qualità in grado di differenziarsi dagli altri. L'obiettivo di questa differenziazione deve essere quello di esaltare e far percepire, sia al trasformatore che in particolare al consumatore finale, le caratteristiche qualitative dei prodotti derivati da questo latte.

I produttori ed i trasformatori devono comprendere che la globalizzazione non ammette compromessi, perciò, per affrontarla nel migliore dei modi, diventa indispensabile indirizzare sempre più le produzioni verso l'alta qualità e di conseguenza la tipicità. Naturalmente tale modo di operare è portatore di notevoli benefici economici per i primi attori della filiera latte (produttori e trasformatori), anche se richiede da parte loro una maggiore diligenza nel lavoro e un investimento finanziario superiore: in particolare il produttore di latte per ottenere questo maggiore utile deve applicare nella conduzione della propria azienda tutte quelle conoscenze messe a disposizione dalle scienze agrarie. Adottare le moderne tecnologie di allevamento non vuol dire precludere o cancellare tutti gli insegnamenti e le esperienze che ci sono state tramandate dal passato, al contrario, il buon allevatore deve sapere mediare fra passato e presente. Egli, per spirito d'emulazione o altro, non deve farsi influenzare eccessivamente dalle mode, le quali il più delle volte danno cattivi frutti, ma deve lavorare nella propria azienda agendo in modo organico su tutti quei fattori in grado di fargli raggiungere l'obiettivo preposto, ovvero di produrre e di conseguenza portare al mercato una materia prima genuina e di alta qualità che è sinonimo di differenziazione.

A tale scopo, l'allevatore deve porre molta attenzione nella scelta della razza da allevare, nell'alimentazione degli animali (deve sempre privilegiare l'utilizzo di alimenti consoni alla specie e che siano sani e di produzione aziendale: foraggi secchi, verdi, cereali, pascolo, ecc.), nella qualità e l'igiene dell'ambiente di allevamento (deve assegnare spazi molto ampi agli animali per tutelare al meglio il loro ordinamento sociale e, di conseguenza, disporre di ambienti ben areati e

soleggiati), nella conduzione (deve sempre puntare sul benessere degli animali rispettando le loro esigenze naturali, in modo tale da evitare di esporli al rischio di stress e malattie).

In molti casi l'insuccesso nel raggiungimento degli obiettivi è da imputare principalmente ad una inadeguata conduzione dell'allevamento che è quasi sempre associata ad empirismo e faciloneria frutto di carenza di istruzione tecnica da parte dell'operatore.

1.1. ZOOTECNIA DA LATTE E PRINCIPALI RAZZE DA LATTE NEL RAGUSANO

Nella provincia di Ragusa, le aziende zootecniche sono concentrate nell'altopiano ragusano e nel territorio modicano, mentre le aziende a indirizzo orticolo-floricolo sono ubicate per lo più lungo la fascia costiera. Complessivamente, nel territorio ibleo le aziende zootecniche sono orientate prevalentemente verso l'allevamento bovino per la produzione di latte e rappresenta il settore portante dell'economia agricola locale; il latte prodotto, viene venduto direttamente alle aziende acquirenti, oppure viene trasformato in azienda per la produzione di formaggi tipici locali (ad es. Ragusano DOP, Cosacavaddu Ibleo, Provola Iblea). L'allevamento bovino viene praticato in aziende a conduzione diretta (quasi la totalità), con l'impiego prevalente della sola manodopera familiare o al massimo extracomunitaria. I fabbricati rurali e le stalle nella maggior parte delle aziende, essendo di costruzione non recente, risultano insufficienti e poco razionali per le attività agricole ed inadatti ad un decente insediamento abitativo. Il settore però, è in fase di notevole ristrutturazione con la presenza di aziende che in questi ultimi anni si sono dotate di strutture razionali sia per il ricovero degli animali che per la semplice conservazione dei foraggi, disponendo inoltre di attrezzature e di un parco macchine tecnologicamente adeguato alle dimensioni aziendali.

L'AIA (Associazione Italiana Allevatori), ha emesso per il 2010 (Tab.1) il seguente bollettino dei controlli della produttività del latte, rilevando nella

provincia di Ragusa 343 aziende, con una media capi di 22 capi per azienda e con 5 razze principali.

Tabella 1. Bollettino dei controlli della produttività del latte (Fonte AIA, 2010, modificato)

| razza | capi | % | allevamenti | media capi/allevamento |
|----------|-------|------|------------------|------------------------|
| frisona | 14606 | 74% | 295 | 50 |
| bruna | 2500 | 13% | 149 | 17 |
| pezzata | 1203 | 6% | 96 | 13 |
| modicana | 501 | 3% | 26 | 19 |
| meticci | 983 | 5% | 95 | 10 |
| Tot. | 19793 | 100% | 343 ¹ | 22 |

¹ somma non aritmetica. Ogni allevamento può avere più razze contemporaneamente.

La vacche allevate in provincia di Ragusa sono rappresentate da razze specializzate per la produzione di latte quali la Frisona e la Bruna, ma anche da razze a duplice attitudine come la Pezzata Rossa e la Modicana. Seppur in minor parte rispetto al passato, esistono anche vacche meticce; dai controlli AIA (2010) risultano in produzione 14606 capi di Frisona, 2500 di Bruna e 501 di Modicana (Tab.1). Considerando la quantità e qualità del latte prodotto da queste 3 razze, si ha (fonte AIA 2010, Graf.1-2):

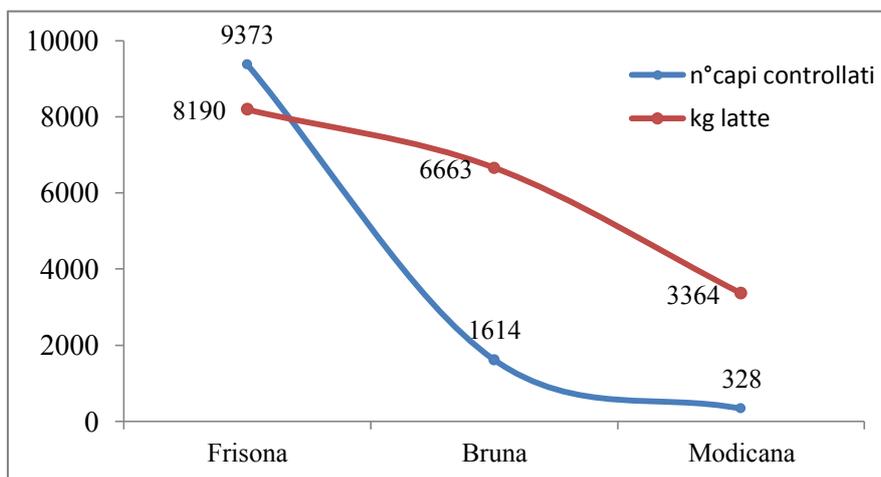


Grafico 1. Kg di latte prodotto in Provincia di Ragusa per le 3 razze oggetto di studio (fonte AIA 2010, modificato)

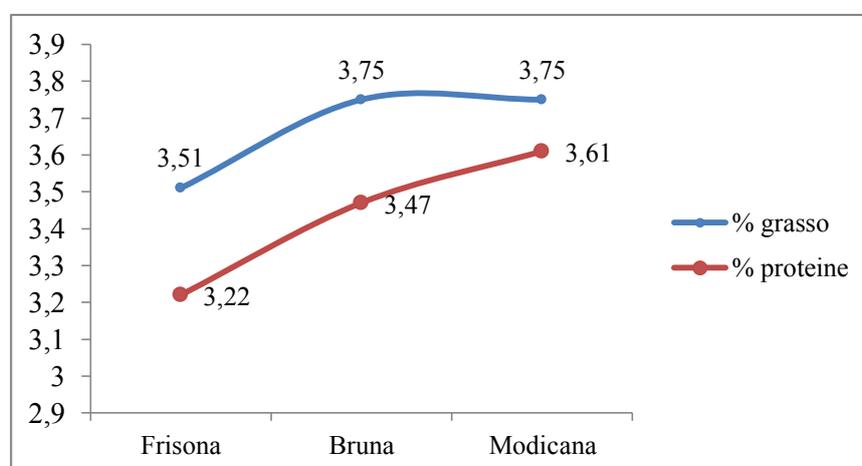


Grafico 2. % di grasso e proteine in Provincia di Ragusa per le 3 razze oggetto di studio in Provincia di Ragusa (fonte AIA 2010, modificato)

1.2. BREVE DESCRIZIONE DELLA RAZZA FRISONA, BRUNA E MODICANA.

La *razza Frisona*, deve la sua vasta diffusione sia all'elevata produttività che alla grande adattabilità alle diverse condizioni climatiche. E' originaria della Frisia, regione geografica a cavallo fra la Germania e l'Olanda, da cui prende il nome; il suo mantello è normalmente pezzato nero, più raramente pezzato rosso (il rosso è, infatti, un carattere recessivo).

Grazie alla sua diffusione in tutto il mondo zootecnicamente avanzato, essa si è evoluta, spesso autonomamente, nelle diverse aree di allevamento, dando origine a entità subrazziali (ceppi) con caratteristiche talvolta abbastanza diverse fra loro.

Questi ultimi due derivano, di fatto, prevalentemente dal ceppo americano (sia statunitense, che canadese) che ha sostituito gradualmente quello olandese grazie all'incrocio di assorbimento oppure all'importazione diretta di animali o di materiale seminale. I ceppi europei sono, rispetto a quelli americani, morfologicamente più omogenei (soprattutto nel mantello), ma di taglia e di livello produttivo talvolta leggermente inferiori.

Oltre che per l'allevamento in purezza, la Frisona fu utilizzata anche per l'incrocio con la razza Bruna allo scopo di ottenere dei meticci più produttivi. Dal 1930 è incominciata l'importazione (soprattutto di tori) dagli Stati Uniti ed è proseguita sino al 1990, principalmente con materiale seminale di grandissimo pregio.

La Frisona italiana (Foto 1) è caratterizzata da grande mole (kg 900÷1.300 nei tori e 550÷800 nelle vacche) e taglia elevata (cm 138÷155 e 127÷145, rispettivamente); tronco lungo, con masse muscolari abbastanza sviluppate ma non troppo evidenti; buona conformazione dell'apparato mammario.



Foto 1. Razza Frisona nel territorio Ibleo

La *razza Bruna*, originaria della Svizzera centrale, è la seconda razza specializzata da latte del mondo, sia per consistenza numerica (quasi 15 milioni di capi) che per diffusione geografica. Essa ha avuto origine dall'azione selettiva operata nei monasteri della Svizzera, in particolare nell'Abbazia di Einsieden del cantone di Schwyz, sulle popolazioni bovine locali a partire dall'anno 1000 d.C., anche se, un piano organico di miglioramento della razza, è iniziato soltanto dopo il 1500. Attualmente è allevata, oltre che in Svizzera, anche nel resto dell'Europa, nelle Americhe e in Africa. Anche questa razza presenta diversi ceppi, tutti derivati per selezione da quello svizzero; tra quelli europei i più importanti sono: lo svizzero, il tedesco, l'austriaco e l'italiano; il ceppo statunitense o Brown Swiss è quello che attualmente domina il mercato mondiale della razza.

La Bruna italiana (Foto 2), originata dal ceppo svizzero, si è diffusa inizialmente nelle vallate alpine e successivamente, in tutta la Penisola. Nelle zone settentrionali (pianura padana) essa è stata sostituita gradualmente dalla più produttiva Frisona; è invece ancora ben rappresentata nell'Italia centrale, soprattutto meridionale e insulare, grazie alla sua ritenuta superiore rusticità ed adattabilità rispetto alla Frisona.



Foto 2. Razza Bruna in provincia di Ragusa

La sua attuale consistenza è di circa 570.000 capi (oltre 343.000 vacche, di cui 126.000 sottoposte ai controlli funzionali). La consistenza media degli allevamenti è di 19 capi (11 vacche). La razza è caratterizzata da: mole (kg 900÷1.000 nei tori e 500÷600 nelle vacche) e taglia (cm 145 e 133, rispettivamente) grandi; conformazione tipica dell'animale da latte, ma conforme meno angolose rispetto alla Frisona; mantello bruno, di diversa tonalità; ottima conformazione della mammella.

Una caratteristica peculiare della razza è la buona capacità di adattamento a condizioni ambientali anche difficili. Sotto l'aspetto produttivo, la Bruna italiana è una razza capace di dare ragguardevoli produzioni di latte, di ottima qualità, con alta resa alla caseificazione, particolarmente adatto alla produzione di formaggi tipici, grazie anche all'elevata frequenza (64%) in essa, della variante genetica B della k-caseina, che è la più favorevole alla caseificazione. La produzione media delle vacche iscritte al Libro Genealogico nel 2009 (64814) è stata di kg 6.739 di latte, con un contenuto lipidico del 3,93% e proteico del 3,51%.

All'opposto delle razze precedenti, la razza *bovina Modicana* può essere considerata come autoctona dell'isola siciliana (Santacroce et al.,1953) da tempo immemorabile, infatti è esistita in Sicilia una popolazione di bovini a mantello

rosso scuro con accentuazioni di colore più o meno estese verso il nero che, essendo di grande rusticità e mole scheletrica, era ben adattata a tutto il territorio siciliano (Leto,1983). Sull'origine di queste popolazioni bovine i pareri non sono concordanti, alcuni autori ipotizzano che abbiano avuto origine dall'introduzione in Sicilia di bovini a manto rosso provenienti dal continente europeo e dalla Scandinavia (Torelli,1964); altri autori affermano invece che i bovini siciliani al pari di altri bovini mediterranei deriverebbero dal "Bos taurus macrocerus", o dal Bos taurus ibericus come indicato rispettivamente da Durst e Sanson (1974).

Quello che appare più certo è che, grazie all'opera antica e duratura degli allevatori e ad un ambiente favorevole, fu selezionato un ceppo migliorato che in conformità all'area di origine ha preso il nome di Modicana (Leto, 1983).

A testimoniare l'importanza e la diffusione di tale razza nella provincia di Ragusa, esistono varie fotografie d'epoca che riportano la fiera zootecnica che si teneva settimanalmente a Ragusa ai primi del '900 (Foto 3, fonte A.R.A.).



Foto 3. Fiera zootecnica a Ragusa ai primi del '900 (Fonte A.R.A.)

Questa razza si diffuse in tutta la Sicilia, dove rappresenta ancora oggi tra le razze minori la più alta densità di popolazione dell'isola; rappresentò per lungo tempo una razza leader in Sicilia, tipicamente considerata razza a triplice attitudine:

latte-lavoro-carne, si distinse per la grande rusticità e adattabilità alle diverse aree dell'isola, pur mantenendo negli altipiani iblei, le migliori performance produttive.



Foto 4. Razza Modicana

E', sicuramente, per la produzione di latte che la razza Modicana (Foto 4) presenta la maggiore propensione. D'altro canto da sempre nella provincia di Ragusa (culla della Modicana) è esistita una tradizione casearia che doveva necessariamente fondersi con la stessa. Inoltre, se ciò non bastasse, si è già indicato che il lavoro di miglioramento genetico negli ultimi anni si è mosso prevalentemente verso questa direzione, e la stessa morfologia degli animali si è evoluta per molti caratteri verso quella più tipica delle linee da latte.

La produzione media di latte per lattazione si attesta su 300/350 q. con punte di oltre i 400 q. come confermato da indagini diverse (Lanza et al., 1991; Giaccone et al., 1985). A tal proposito si deve registrare che notevole è il margine di variabilità da mettere in relazione oltre che al possibile diverso livello genetico anche alla diversa modalità di gestione degli animali; i dati più alti indicano una potenziale azione di miglioramento, particolarmente auspicabile, viste le esigue produzioni. In

particolare l'indagine di Giaccone et al.,(1985) ha messo in evidenza un generale aumento della quantità di latte all'avanzare del numero di lattazioni con punte di massima produzione dopo il quarto parto. Questo rientra nella norma in quanto le primipare presentano sempre livelli produttivi inferiori alle pluripare (Bittante et al., 1987).

Sullo stesso campione di vacche si è rilevato che più dell'80% delle lattazioni durano 150 e i 200 gg, valori di rilievo per le capacità produttive della razza; è interessante notare come le più alte produzioni non si sono registrate necessariamente per i gruppi con lattazione di maggiore durata (Giaccone et al., 1985).

Migliore risulta l'aspetto qualitativo del latte, infatti il latte di Modicana presenta nella media un'elevata concentrazione, in particolare per elevati tenori, in proteine e grassi. Possono infatti, ritenersi comuni valori del 3,6/3,7 % in grasso e del 3,3/3,4% in proteine (Lanza, 1991), significativamente migliori rispetto a quelli del latte proveniente da vacche Frisone, (Lanza et al.,1991; Marletta et al., 1998; Campo et al.,1999); ma per la verità piuttosto simili, tranne che per una maggiore percentuale di proteine, ai valori della razza Bruna che nonostante abbia una maggiore produttività, presenta un'ottima qualità del latte paragonabile a quella della Modicana (Campo et al., 1999).

Un elevato contenuto in lipidi, ma specialmente in proteine dà già una prima, anche se sommaria, indicazione che il latte di Modicana è particolarmente vocato per la caseificazione, tuttavia si sa che l'aspetto più importante per determinare la maggiore o minore attitudine del latte alla caseificazione viene fornito dalle proteine e in particolar modo dalla frazione caseinica delle stesse (Bastasin e Ceresa, 1997). Anche da questo punto di vista la razza Modicana conferma un'ottima qualità del latte con un'incidenza di caseine sulla proteina totale fino all'86% (Campo et al., 1999). Ulteriori studi sono stati condotti al fine di qualificare la composizione delle caseine. A tal proposito è bene ricordare che la frazione caseinica del latte sottoposta all'analisi elettroforetica si classifica in quattro frazioni α , β , γ , κ , aventi tutte un ruolo nella formazione del coagulo

presamico; in particolare un ruolo decisivo è svolto dalla frazione K-caseina che condiziona la rapidità di formazione, la resistenza dello stesso e quindi l'efficienza di tutto il processo di caseificazione (Bittante et al.,1987). Inoltre, le frazioni α , β , γ , presentano delle varianti genetiche indicate con le lettere (A, B, C, D, E), con variazioni minime ma importanti per l'individuazione del latte più idoneo per la caseificazione e per il consumo alimentare (Bastasin e Ceresa, 1997).

Per la K-caseina le varianti genetiche più importanti sono la A e la B. Le vacche possono essere classificate in tre gruppi KAA, KBB, ed eterozigoti KAB che producono entrambi i tipi di K-caseina; di queste varianti la KBB è generalmente associata ad un latte con una caseificazione più efficiente ed una maggiore resa in formaggio. L'indagine riportata (Marletta et al., 1998) ha messo in evidenza come la razza Modicana presenta un'elevata incidenza della K-caseina ed in particolare una maggiore frequenza della K-caseina B rispetto alla K-caseina A, questo conferma che i genotipi sono per lo più KBB o KAB e quindi apprezzabili.

2. IL LATTE DI VACCA

2.1. GENERALITÀ'

“Il **latte di vacca** è un liquido uniforme e bianco, costituito da diversi componenti che si trovano in forma diversa e presentano caratteristiche diverse.”

Secondo l'aspetto legislativo, il latte è definito come il prodotto della mungitura regolare, completa ed ininterrotta della mammella di bovine in buono stato di salute e di nutrizione (art. 15 del Rdl del 9-5-1929, citato da APA Cuneo, 2004).

Dal punto di vista merceologico, il latte che ha maggiore rilevanza è quello di vacca, per cui con la sola denominazione “latte” si indica esclusivamente il latte di vacca. Il latte di altri animali deve portare la denominazione della specie cui appartiene: latte di capra, latte di pecora, latte di asina, ecc. (DPR. 1504/63-DM.29/9/76). Il latte, da un punto di vista chimico-fisico, è una miscela complessa di componenti di varia natura, che si può suddividere in quattro frazioni (Corradini C., 1995):

- una **frazione acquosa**, nella quale si trovano disciolti il lattosio, altri zuccheri, i sali minerali, i composti azotati non proteici, gli aminoacidi liberi e le vitamine idrosolubili;
- una **frazione globulare**, rappresentata da particelle di grasso (MFG, milk fat globule) costituite da trigliceridi e rivestite da una membrana di natura fosfolipidica e proteica (MFGM, milk fat globule membrane);
- una **frazione micellare**, composta dalle caseine;
- una **frazione colloidale**, costituita da fosfato tricalcico e da α e β lattoglobuline.

Queste diverse fasi sono in equilibrio instabile. Infatti, la conservazione del latte a temperatura ambiente comporta, entro le prime 12-24 ore, la separazione e la risalita in superficie della fase grassa in emulsione (affioramento) e, successivamente, in seguito all'azione biologica dei microrganismi, la separazione della sospensione caseinica con formazione del coagulo. Il latte si presenta bianco,

colore conferitogli dalle micelle di caseina che disperdono la luce, mentre, le sfumature giallastre sono da attribuire alla frazione lipidica e ai carotenoidi (APA Cuneo, 2004). Nel siero sono invece presenti dei pigmenti giallo-verdastri, le flavine.

2.2. FATTORI CHE INFLUENZANO LA QUALITÀ

La composizione del latte è molto variabile, essendo condizionata dalla complessa attività metabolica dell'animale, da fattori nutrizionali, e da fattori ambientali (Tab. 2): tra questi intervengono, in maniera più o meno pronunciata la razza, l'età dell'animale, il suo stato di salute, l'alimentazione, lo stadio di lattazione, la tecnica di mungitura, le condizioni ambientali e le stagioni.

Tabella 2. Fattori che influiscono sulla qualità e sulla composizione del latte

| FATTORI ENDOGENI | FATTORI ESOGENI |
|-------------------------|------------------------------|
| GENETICI | ZOOTECNICI |
| Razza | Clima |
| Individuali | Alimentazione |
| FISIOLOGICI | Sistema di allevamento |
| Stato di salute | Stabulazione |
| Stadio di lattazione | Tecnica e tempi di mungitura |

Questi fattori non agiscono indipendentemente gli uni dagli altri, ma interagiscono tra loro (Comba et al., 1995).

2.2.1. FATTORI ENDOGENI

Per quanto riguarda le cause di origine genetica, esiste una variabilità ereditaria individuale della produzione e composizione del latte, caratteristica di ogni singolo animale della stessa razza e nelle stesse condizioni di allevamento. Naturalmente la composizione del latte varia in funzione della *razza* considerata e in particolar modo, il contenuto di grasso varia moltissimo tra razze e tra individui all'interno della stessa razza (Mariani et al. 1987; Alais, 2000). Infatti, sia il tenore in grassi che in proteine del latte, sono determinati per il 40 % dalla genetica (ereditabilità) e per il 60 % dell'ambiente, mentre le produzioni di latte, grasso e proteine (kg di grasso e proteine prodotti in lattazione) sono determinate dalla genetica per un 25–30% e dall'ambiente per un 70–75% (Salvadori del Prato, 1998). Le componenti che presentano minore variabilità sono il lattosio e i sali minerali che sono indici utilizzati per l'individuazione di latti normali, anche perché il lattosio è un fattore limitante della capacità di sintesi della mammella e quindi della produzione di latte.

La composizione del latte risente anche dello *stato di salute dell'animale*, infatti, i fenomeni mastitici provocano una diminuzione e un'alterazione della produzione di latte. Tali patologie provocano un aumento nel latte delle cellule somatiche, proporzionale all'intensità del fenomeno infettivo, con conseguente arricchimento di enzimi di origine cellulare, oltre all'aumento delle immunoglobuline. La mastite provoca inoltre, una diminuzione della capacità di sintesi della ghiandola mammaria, con conseguente diminuzione di grasso, caseina, lattosio ed un aumento dei prodotti di filtrazione diretta dal plasma sanguineo (sieroproteine, sali minerali, enzimi, etc.), determinato da una maggiore permeabilità dei capillari (Corradini, 1995). Le mastiti, inoltre, rappresentano la principale fonte di profonde alterazioni, non solo a livello di composizione quanto piuttosto nei riguardi dell'attitudine alla coagulazione (Mariani et al., 1987). Infine, nel loro insieme tutte le variazioni di composizione provocano un aumento del pH del latte, spesso superiore a 6,8 (6,6 – 6,65 nel latte normale).

Gli effetti di variazione, più significativi, della composizione del latte sono quelli connessi con lo *stato fisiologico dell'animale*, infatti durante il corso della

lattazione si verificano cambiamenti nel contenuto di vari componenti (Alais, 2000). Più specificatamente il grasso e le proteine totali tendono a diminuire fino a raggiungere valori minimi, rispettivamente al secondo e al quinto mese dall'inizio della lattazione, per poi progressivamente aumentare a mano a mano che ci si avvicina alla fine del ciclo. La curva di produttività ha, invece, un andamento opposto a quello del grasso e delle proteine, raggiungendo il suo massimo fra il primo e il terzo mese. Le variazioni che si riscontrano maggiormente durante il ciclo di lattazione sono visibili nei primi e negli ultimi giorni della lattazione stessa. Immediatamente dopo il parto, e per i primi 3–4 giorni, l'animale produce il colostro, un liquido che non ha ancora le caratteristiche del latte vero e proprio, essendo più ricco di tutti i componenti (soprattutto di immunoglobuline), ad eccezione di lattosio, potassio, azoto non proteico e acqua. La sua composizione tende a mutare velocemente e le variazioni, durante le successive fasi della lattazione, avvengono soprattutto a carico delle proteine, del fosforo, del calcio e del residuo magro che, dopo un'iniziale diminuzione, tendono a rimanere costanti per aumentare al termine della lattazione (Strzalkowska et al., 2002). In quest'ultima fase il latte, oltre ad avere un più elevato contenuto di materia secca totale per maggiori tenori di grasso, proteine e ceneri, presenta delle variazioni anche nella componente salina, la quale è ricca di calcio e sodio ed è povera di potassio e fosforo. Inoltre per il variare degli equilibri calcio/fosforo il latte a fine lattazione ha una minore stabilità ai trattamenti termici.

2.2.2. FATTORI ESOGENI

I fattori ambientali come il *clima* possono esercitare influenze diverse sulla produzione e sulla composizione del latte durante il corso della lattazione delle bovine (García et al., 2001), in particolar modo se quest'ultimo è ottenuto in montagna o in pianura (Collomb et al., 2002). Le variazioni stagionali ad esempio comportano un incremento del grasso, del residuo magro, delle proteine e dei sali minerali nel periodo invernale. Mentre per temperature ambientali, comprese tra 0 e 29°C, la composizione percentuale dei costituenti del latte non mostra variazioni significative, al contrario per temperature superiori ai 30 °C diminuisce il livello di

produzione, il contenuto proteico, il residuo magro ed il lattosio. Inoltre in determinate condizioni ambientali si possono verificare perdite di produzione, come ad esempio, il caldo eccessivo provoca una maggiore frequenza di latti ipoacidi. L'effetto dei valori ambientali non è, però, uguale per tutti i componenti del latte, infatti, sul lattosio e sui sali minerali è praticamente trascurabile, mentre le percentuali di grasso e proteine possono essere modificate rispettivamente di 2-3 punti decimali (es. da 3,5 a 3,7%) e di 0,1-0,4 decimali in concomitanza con i fattori nutrizionali (Salvadori del Prato, 1998).

Anche *l'alimentazione* quindi, detiene un ruolo fondamentale: sebbene i cambiamenti nella composizione del latte, possono anche essere influenzati attraverso le tecniche di allevamento e di gestione, l'alimentazione è in grado di indurre più rapidamente cambiamenti nella direzione voluta (Fredeen, 1996). L'alimentazione influenza notevolmente la qualità del latte soprattutto in termini di contenuto lipidico (Ubertalle et al., 1998). Infatti, la composizione acidica dei lipidi del latte dipende dal tipo e dalla quantità di precursori per i processi di sintesi, che arrivano a livello mammario dalla dieta. L'assunzione di quantità insufficienti di fonti di energia provoca, ad esempio, una mobilitazione dei grassi di riserva sotto forma di acidi grassi liberi (FFA) i quali sono captati dalla mammella ed incorporati nel grasso del latte con conseguente incremento dei grassi ad elevato peso molecolare, e in particolare di acido oleico (Pulina et al, 2007). Infine, bisogna tener presente che una cattiva alimentazione si riflette non solo sulla qualità del latte e sulle sue proprietà reologiche ma soprattutto sullo stato sanitario dell'animale.

La *tecnica di mungitura* può influenzare la qualità del latte, soprattutto se non effettuata correttamente e fino allo svuotamento della mammella poiché, avendo il latte di "sgocciolamento" un maggior contenuto lipidico, una mungitura incompleta potrebbe provocare una riduzione della percentuale di grasso (Pulina et al., 2007); infatti, il contenuto lipidico aumenta con il progredire della mungitura in relazione alla viscosità dei globuli (Martini et al., 1999). Inoltre, si osservano anche differenze tra il latte della mungitura mattutina e quello della mungitura serale (quest'ultimo è più ricco di grasso in percentuale) e nel corso della stessa mungitura

(il primo latte è più magro mentre il grasso si concentra negli ultimi getti) (Zullo et al., 1997).

Per concludere, riguardo alle *tecniche d'allevamento*, la ricerca ha dimostrato che, quando gli animali sono al pascolo, producono un latte più ricco di componenti aromatiche e di molecole importanti per la salute (Martin et al., 2005). La frazione lipidica del latte proveniente da animali al pascolo presenta, oltre ad un più alto contenuto di CLA, un rapporto ω -6/ ω -3 più basso (2:1), principalmente attribuito a una maggiore presenza di acidi grassi polinsaturi, quali l'acido α -linolenico di cui è ricca l'erba ad uno stadio vegetativo non avanzato (Abu-Ghazaleh et al., 2001). Il pascolo influenza anche la quantità di vitamine liposolubili nel latte. In particolare, si è visto che il contenuto della vit E e della vit A è più elevato nell'erba fresca rispetto ai foraggi conservati e diminuisce nelle piante che sono ad uno stadio di maturità avanzato (Kalac P. et al., 2006; Nozière P. et al., 2006). È stato dimostrato che il latte proveniente da animali al pascolo in alta montagna aveva un maggiore contenuto di CLA e acido α -linolenico e di trans-vaccenico rispetto a quello proveniente da pascoli situati a quote più basse, mettendo in evidenza l'influenza della diversa composizione botanica sul profilo acidico del latte (Collomb et al., 2002).

2.3. SECREZIONE E COMPOSIZIONE CHIMICA

La produzione del latte è regolata da un meccanismo ormonale neuroendocrino che avviene a livello delle cellule secretici mioepiteliali della ghiandola mammaria. Esse sono localizzate attorno agli acini che costituiscono la mammella, le quali versano il loro secreto nei vari lumi, influenzate dalla presenza di ossitocina, che permette la loro contrazione e la fuoriuscita del latte (Fig. 1).

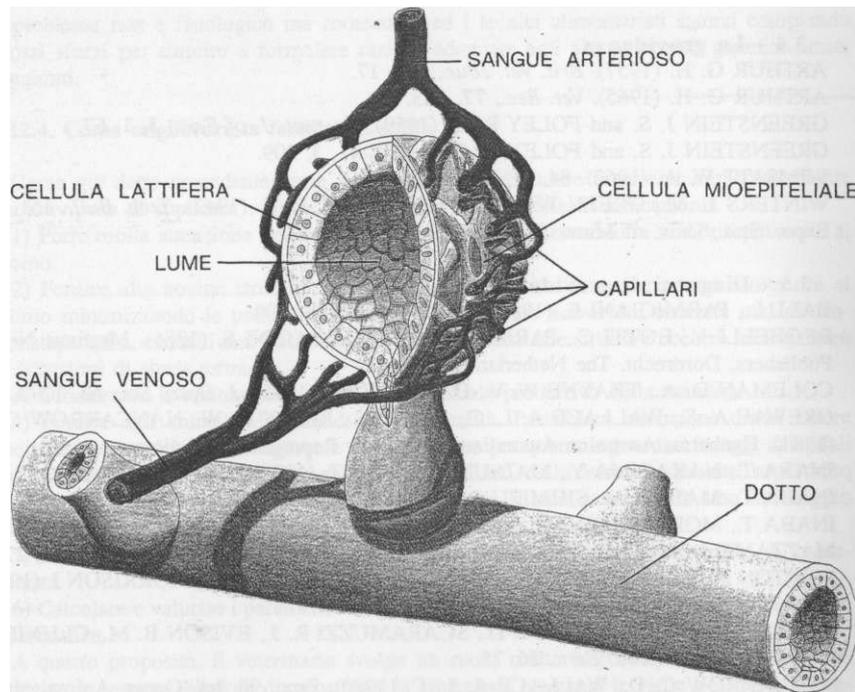


Figura 1. Struttura dell'alveolo mammario (da Succi e Hoffmann, 1991)

Gli acini, a loro volta, confluiscono nella cisterna del latte (seno galattoforo), dalla quale avviene, in assenza di stimoli inibitori, l'eiezione del latte attraverso lo sfintere del capezzolo. Quest'ultima fase è consentita da una regolazione neuro-ormonale ipotalamo-ipofisaria. L'ipofisi posteriore, infatti, contribuisce alla secrezione di ossitocina, che agisce sui recettori specifici delle cellule mioepiteliali, mentre l'ipofisi anteriore permette la produzione degli ormoni lattogeni, tra cui la prolattina, la somatotropina e l'ormone placentario lattogeno. Rilevante è la capacità di sintesi della mammella (lattogenesi), infatti il 92% della sostanza secca, le proteine (caseine, α -lattoalbumina e β -lattoglobulina), i lipidi (trigliceridi), i glucidi (essenzialmente il lattosio) sono sintetizzati a livello della suddetta ghiandola secretoria, partendo da componenti più semplici, gli aminoacidi, il glicerolo, il glucosio che vengono trasportati dal flusso ematico.

Il latte è un prodotto molto importante nell'alimentazione umana e questa sua peculiarità è dovuta alla complessa ed eterogenea composizione, che ne permette diversi utilizzi e ne fa al contempo un alimento completo e variabile. Il latte infatti,

è un prodotto complesso con molte sostanze differenti che si trovano sospese o in soluzione (Brunelli, 2008). È un alimento fondamentalmente composto da acqua, che rappresenta l'87% del peso complessivo e da componenti di varia natura, presenti sia allo stato di soluzione vera (sali, vitamine idrosolubili, sostanze azotate non proteiche, zuccheri), sia allo stato colloidale (proteine e parte dei fosfati e citrati di calcio) e sia allo stato di emulsione (lipidi e vitamine liposolubili). Inoltre, esso contiene altre sostanze di importanza non trascurabile dal punto di vista nutritivo, come vitamine, enzimi, ormoni ed oligoelementi. Questi costituenti del latte sono tra di loro strettamente legati mediante un'interdipendenza più o meno stretta ed in ogni modo, la loro concentrazione è differente a seconda la specie (Tab. 3), la razza, la dieta, il periodo di lattazione, etc. (Salvadori del Prato, 1998; 2005). La miscela di tutte queste sostanze fa del latte un alimento completo, caratterizzato da un determinato livello energetico e ad alto valore nutritivo, unico nel suo genere.

Tabella 3. Costituenti del latte in funzione della specie (da Salvadori del Prato, 1998)

| Specie | Acqua % | Residuo secco % | Grasso % | Lattosio % | Sost. azotate % | Caseina % |
|----------|------------|-----------------------|-------------|---------------|-----------------------|--------------|
| Vacca | 87-89 | 11-13 | 3,4-3,6 | 4,6-4,7 | 3,4-3,6 | 2,50 |
| Bufala | 78-84 | 16-22 | 6-9 | 4,7-4,9 | 4,4-4,8 | 3,90 |
| Capra | 83-89 | 11-17 | 4,3-4,4 | 4,3-4,7 | 4,0-4,2 | 3,00 |
| Pecora | 79-82 | 18-21 | 5-7 | 4,5-5,0 | 5,6-6,0 | 4,50 |
| Asina | 89-90 | 10-11 | 1,5 | 6,7 | 1,65 | 0,95 |
| Balena | 52-55 | 45-48 | 35,0 | 0,7 | 10,00 | - |
| Cagna | 81-82 | 18-19 | 4,0 | 4,8 | 9,0 | 4,50 |
| Cavalla | 90-91 | 9-10 | 1,1 | 5,6 | 2,0 | 1,25 |
| Coniglia | 70-71 | 29-30 | 12,0 | 1,8 | 13,0 | 9,00 |
| Donna | 87-88 | 12-13 | 3,3 | 6,6 | 1,40 | 0,85 |
| Gatta | 81-83 | 17-19 | 4,0 | 4,9 | 9,10 | 2,80 |
| Renna | 66-68 | 32-34 | 17,5 | 2,8 | 9,90 | 7,90 |
| Scrofa | 82-84 | 16-18 | 5,0 | 3,0 | 7,20 | 3,70 |
| Zebù | 81-82 | 18-19 | 5,2 | 5,1 | 4,20 | 3,30 |

La caratteristica che rende il latte un alimento così importante è che in esso sono presenti macromolecole indispensabili per una corretta alimentazione (carboidrati, lipidi e proteine), insieme ai micronutrienti. Le proteine, in particolare, hanno un elevato valore biologico e contribuiscono al valore nutrizionale di questo alimento come fonte di azoto e aminoacidi (Brunelli, 20089). Com'è noto, infatti, fra i diversi alimenti funzionali, il latte ha assunto negli ultimi anni un nuovo ruolo come fonte di molecole bioattive, in grado di influenzare alcuni aspetti della salute umana (Tab. 4), in quanto ad alcune proteine e peptidi, originati dalla loro idrolisi, sono state associate proprietà fisiologiche (Tab. 5).

Tabella 4. Le principali proteine bioattive del latte

| <i>Proteine maggiori</i> | <i>Proprietà fisiologiche</i> |
|--------------------------------------|-------------------------------|
| Lattoperossidasi | Azione enzimatica |
| Immunoglobulina | Azione antibatterica |
| Transferrina | Chelazione dei metalli |
| β Caseina | Chelazione dei metalli |
| Lizozima | Azione enzimatica |
| Lattoferrina | Chelazione dei metalli |
| Prolattina | Azione ormonale |
| Insulina | Azione ormonale |
| Somatostatina | Azione ormonale |
| Calcitonina | Azione ormonale |
| TSH (Thyroid Stimulating Hormone) | Azione ormonale |
| TRH (Thyrotropin Releasing Hormone) | Azione ormonale |
| ACTH | Azione ormonale |
| EGF (Epidermal Growth Factor) | Fattore di crescita |

Tabella 5. I principali peptidi bio - attivi estratti dalle proteine del latte

| <i>Peptidi estratti</i> | <i>Proteine</i> | <i>Proprietà fisiologiche</i> |
|-------------------------|---------------------------------|--|
| Casomorfine | α e β caseine | Agonista oppioide |
| α Lattorfina | α lattoalbumina | Agonista oppioide |
| β Lattorfina | β lattoglobulina | Agonista oppioide |
| Lattoferroxine | lattoferrina | Antagonista oppioide |
| Casoxine | k-caseina | Antagonista oppioide |
| Casochinine | α_{s1} e β caseine | Anti - ipertensione (inibizione dell'A.C.E.) |
| Casoplateline | k-caseina | Anti - ipertensione (inibizione dell'A.C.E.) |
| | | Antitrombotico (inibizione della |
| Caseinomacropetide | k-caseina | formazione dei coaguli sanguigni per aggregazione delle placche) |
| Immuno-peptidi | α e β caseine | Immunostimolanti (attivazione dei leucociti) |
| Lattoferricine | lattoferrina | Trasporto dei minerali e immunomodulazione |
| Fosfopeptidi | α e β caseine | Trasporto dei minerali |

Un'altra componente rilevante è rappresentata dalla frazione lipidica del latte, che negli ultimi anni è stata oggetto di numerosi studi, focalizzati in particolar modo sulle caratteristiche nutrizionali degli $\omega 3$, $\omega 6$ e CLA e sui possibili effetti

benefici di quest'ultimi sulla salute umana, riscontrati attraverso l'impegno della ricerca scientifica in ambito nutrizionale ed alimentare.

La frazione lipidica del latte è pertanto una componente fondamentale dal punto di vista nutrizionale nell'alimentazione umana, ed inoltre, è un elemento chiave nell'ambito della struttura e dell'aroma di molti prodotti lattiero-caseari (Michalski, 2007).

Naturalmente anche le altre componenti del latte, rappresentate dalla frazione glucidica, vitaminica, minerale ed enzimatica rivestono una notevole importanza nutrizionale e tecnologica. Nel latte, infatti, troviamo elevati livelli di calcio e di riboflavina (vit. B2), che coprono la maggior parte dei fabbisogni giornalieri di un individuo e un buon apporto di altre vitamine, come la vitamina A ed E (Paina, 1996).

2.4. GLUCIDI

I glucidi del latte sono rappresentati in massima parte da lattosio che è lo zucchero specifico del latte. Il latte rappresenta quasi l'unica fonte naturale di lattosio (Salvadori del Prato, 2001).

Gli altri glucidi che si ritrovano nel latte sono principalmente glucosio, galattosio e alcuni oligosaccaridi che, nel latte bovino, sono presenti in piccolissime quantità (0,1% sul tal quale). Il tenore di glucidi del latte è piuttosto costante nell'ambito di ogni specie; tra specie diverse invece si riconoscono importanti differenze. Inoltre, le specie che hanno un elevato tenore in lattosio nel latte tendono a produrre un latte povero di altri glucidi (in particolare oligosaccaridi) mentre, le specie che hanno basso tenore in lattosio sintetizzano molti oligosaccaridi; fa eccezione la donna il cui latte è ricco sia di lattosio che di oligosaccaridi. Inoltre, sembra esserci una relazione inversa tra tenore proteico del latte e tenore in glucidi (Salvadori del Prato, 2001).

2.4.1. IL LATTOSIO

Il lattosio è un disaccaride formato da una molecola di glucosio e da una di galattosio legate tramite un legame beta 1-4. Esso viene sintetizzato nelle cellule secernenti della ghiandola mammaria a partire dal glucosio ematico.

Nei ruminanti il principale precursore del glucosio ematico è l'acido propionico, uno degli acidi grassi volatili che si formano in sede ruminale. Il lattosio viene sintetizzato grazie a due proteine, la galattosio-transferasi e l'alfa lattoalbumina. Il lattosio nel latte di ciascuna specie si mantiene piuttosto costante; per esempio nel latte di vacca la percentuale di lattosio è del 5% circa. Il colostro si distingue per un basso tenore in lattosio del secreto. La quantità di lattosio sintetizzata è direttamente proporzionale alla quantità di latte prodotta.

A parte il periodo colostrale, l'unico caso in cui si possono verificare sensibili variazioni della percentuale di lattosio del latte è quello della presenza di una mastite, ossia di una infiammazione del tessuto mammario. In questo caso, infatti, cala vistosamente la presenza nel latte di tutti i componenti che vengono sintetizzati nella mammella (lattosio compreso) in conseguenza dell'alterata funzionalità delle cellule secernenti e, contemporaneamente, aumenta la presenza nel latte dei componenti di origine ematica (acqua compresa) a causa dell'alterata permeabilità delle membrane.

Diverse ipotesi sono state avanzate per spiegare la presenza nel latte di lattosio al posto di altri zuccheri. Secondo una di queste ipotesi il lattosio sarebbe utile in quanto fonte per il neonato di galattosio, importante nella sintesi dei galattolipidi e in particolare dei galattocerebrosidi contenuti nelle cellule del sistema nervoso (mielina).

Il lattosio nel latte è importante non solo dal punto di vista nutrizionale, ma anche per altri motivi:

- determina la solubilità e la tessitura di alcuni derivati del latte;
- è uno dei responsabili delle alterazioni di colore, sapore e aroma del latte in seguito a trattamenti termici;

- è il substrato principale delle fermentazioni microbiche del latte;
- favorisce, assieme alla vitamina D, l'assorbimento del calcio del latte.

2.5. FRAZIONE PROTEICA

Le **proteine del latte** costituiscono circa il 94-97% delle sostanze azotate totali e possono essere suddivise fondamentalmente in due gruppi: le *caseine*, che rappresentano circa l'80% delle SAT (Sostanze Azotate Totali) e vengono elaborate esclusivamente dalla ghiandola mammaria, e le *sieroproteine*, che costituiscono il 17% delle SAT e comprendono da una parte le lattoalbumine e le lattoglobuline, elaborate nella mammella, e dall'altra le sieroalbumine e le immunoglobuline, di derivazione ematica (Martini M. et al., 1999a). Le proteine del latte sono importanti nell'alimentazione umana per il loro elevato valore biologico in ragione della loro elevata digeribilità e dell'ottima composizione in aminoacidi essenziali. Il latte bovino, così come quello degli altri ruminanti, presenta un'elevata proporzione di caseine rispetto alle sieroproteine.

2.5.1. CASEINE

Le **caseine** sono le più abbondanti proteine del latte e sono sintetizzate nella ghiandola mammaria. Rappresentano il 78% circa delle sostanze azotate presenti nel latte di vacca.

Si conoscono quattro tipi di caseine distinte in base alla distribuzione delle cariche e alla capacità di precipitazione in seguito all'addizione di calcio: α (30%), β (47%), κ (7,4%) e γ (15,6%), caratterizzate da diverse varianti genetiche (Martini M. et al., 1999a). Nel latte le caseine si trovano nella fase colloidale e formano aggregati molecolari (principalmente insieme ad enzimi e sali minerali quali Ca e P) chiamati "micelle caseiniche". Pur non essendo particolarmente idrosolubili, nel latte, le micelle caseiniche vengono mantenute in dispersione; tuttavia è possibile farle aggregare tra loro (coagulare) per azione enzimatica o per acidificazione, ma

non per riscaldamento. Il processo di coagulazione del latte dipende strettamente dalla percentuale di caseine totali (e quindi dal numero di micelle caseiniche che si trovano in sospensione colloidale) e dalla dimensione delle micelle: tanto maggiore è la percentuale di caseine e minore il diametro delle micelle, tanto minore sarà il tempo di coagulazione, mentre, maggiore sarà la consistenza del coagulo.

2.5.2. SIEROPROTEINE

Le *sieroproteine* costituiscono il 20% circa delle sostanze azotate totali del latte di vacca e hanno un peso molecolare inferiore alle caseine. Le sieroproteine non sono aggregati proteici come le caseine, ma si trovano nel latte come monomeri o polimeri dei quali ne è particolarmente ricco il siero di latte dopo coagulazione della caseina. Le sieroproteine, essendo ricche in aminoacidi essenziali, e in particolare in aminoacidi solforati, vantano un elevato valore biologico che li rende particolarmente interessanti per la formulazione di integratori ad uso umano.

Avendo basso peso molecolare (rispetto alle caseine) non precipitano al loro punto isoelettrico (pH 6) ma sono sensibili al calore: il riscaldamento, soprattutto in ambiente acido, ne determina la denaturazione e la precipitazione.

Le sieroproteine più conosciute sono la beta-lattoglobulina, l' alfa-lattoalbumina e la sieralbumina. Nel siero sono presenti anche le immunoglobuline che sono glicoproteine ad elevato peso molecolare dotate di proprietà immunitarie; sono infatti anticorpi capaci di legarsi a batteri e spore. Tra le proteine del siero sono incluse anche la transferrina, la ceruloplasmina, alcuni fattori di crescita e il lisozima.

2.6. VITAMINE

Le *vitamine* presenti nel latte, derivando direttamente dal sangue, dipendono dal contenuto negli alimenti, dalla sintesi nel tubo digerente e dall'entità dei depositi dell'animale. Tra tutti gli alimenti il latte è quello che presenta la dotazione più

equilibrata e più completa dell'intero patrimonio vitaminico: nei grassi le vitamine liposolubili, nel plasma latteo quelle idrosolubili.

Gli antiossidanti presenti nel latte come la vitamina E ed il β -carotene, sono in grado di inibire la formazione di radicali liberi e di ossidanti, inoltre, possono espletare la loro attività sia a livello dell'alimento stesso che dell'organismo che lo consuma (Slot et al., 2006).

Nel latte queste vitamine assieme ad altre limitano l'ossidazione lipidica, in particolare degli acidi grassi polinsaturi (PUFA), da cui generano un'ampia gamma di molecole, alcune importanti dal punto di vista aromatico, altre responsabili di alterazioni organolettiche (rancidità) e della formazione di composti potenzialmente tossici (Havemose et al., 2004). Gli antiossidanti inoltre, una volta introdotti con la dieta, svolgono un effetto protettivo nei confronti del danno cellulare determinato dai radicali sui lipidi, proteine e DNA.

2.6.1. VITAMINA E

Con il termine vitamina E si intende, in generale, una famiglia di otto molecole differenti, a carattere liposolubile, raggruppati in due gruppi di composti: i tocoferoli ed i tocotrienoli (Kamal E.A. et al., 1996).

Ognuno dei due gruppi comprende a sua volta quattro isomeri indicati rispettivamente con α , β , γ , δ , che differiscono per il numero e la posizione dei gruppi metilici fissati sull'anello cromanilico. Negli alimenti e nei tessuti animali riscontriamo principalmente gli isomeri α -tocoferolo e γ -tocoferolo.

Studi suggeriscono che una elevata assunzione di vitamina E riduce il rischio di cancro e di malattie cardiovascolari, inoltre può stimolare le cellule T e migliorare il sistema di difesa immunitario.

Fonti alimentari

La vitamina E è contenuta soprattutto negli alimenti di origine vegetale. Tutte le piante superiori contengono α -tocoferolo, localizzato prevalentemente nelle foglie e nelle parti verdi.

Le fonti principali sono rappresentate dall'olio di germe di grano, di arachidi, di mais, di oliva e dai frutti oleosi.

Il latte contiene in media 0,6 mg/L di vitamina E. Il latte vaccino non è una grande sorgente di vitamina E, tuttavia bevendone almeno mezzo litro al giorno soddisfa il 3% della razione giornaliera raccomandata di vitamina E. E' noto che i globuli di grasso del latte inoltre favoriscono la biodisponibilità e il trasporto di questi elementi liposolubili nel corpo.

La concentrazione di vitamina E nel latte non è costante, dipende da diversi fattori endogeni ed esogeni quali la razza, lo status di salute dell'animale, mastite, l'alimentazione, la stagione, la locazione geografica e così via.

Nel latte intero, l' α -tocoferolo rappresenta l'isomero maggiore di vitamina E (>85%) mentre, il γ -tocoferolo e l' α -tocotrienolo sono presenti in minore quantità.

Metabolismo

L'assorbimento dei tocoferoli, introdotti con gli alimenti, avviene a livello dell'intestino tenue mediante un processo di diffusione passiva che richiede l'azione degli acidi biliari. Inoltre, tale assorbimento, viene facilitato dalla presenza delle molecole di grasso per cui, patologie che alterano l'assorbimento dei lipidi, possono ridurre anche quello dei tocoferoli.

L'efficienza dell'assorbimento dei tocoferoli e dei loro esteri varia dal 20 al 40%, a seconda delle condizioni fisiologiche e nutrizionali.

Dalla mucosa intestinale i tocoferoli passano prima nella circolazione linfatica e poi in quella sistemica, dove sono veicolati dalle lipoproteine. Dalla circolazione periferica i tocoferoli sono captati dal fegato e dai tessuti extraepatici, dove vengono concentrati nelle strutture membranose delle cellule (mitocondri,

microsomi, membrane plasmatiche e nucleari). I depositi quantitativamente più rilevanti sono rappresentati dal tessuto adiposo, dal muscolo e dal fegato .

Ruolo antiossidante della vitamina E

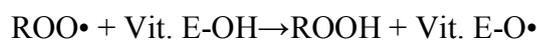
La vitamina E appartiene al complesso sistema antiossidante comprendente sia molecole non enzimatiche, come il glutatione, la vitamina C ed i gruppi sulfidrilici delle proteine, sia gli enzimi come la superossido dismutasi, la glutatione perossidasi e la catalasi.

La quotidiana assunzione di antiossidanti con la dieta permette di ridurre la formazione di radicali liberi, durante lo stress ossidativo, che sono in grado di provocare gravi danni a livello cellulare sui lipidi, proteine e DNA favorendo l'insorgenza di malattie legate a processi degenerativi.

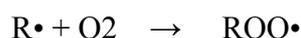
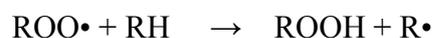
Nel latte la vitamina E è importante nel limitare la perossidazione lipidica, in particolare dei PUFA, causa di rancidità del latte (Havemose et al., 2004).

Quando gli idroperossidi lipidici sono ossidati a radicali perossidici (ROO•) reagiscono mille volte più velocemente con il tocoferolo piuttosto che con gli altri PUFA.

La reazione in presenza della vitamina E è:



mentre in assenza di vitamina E si ha:



Il radicale toferossilico, formatosi nella membrana, viene nuovamente ridotto da riducenti idrosolubili come la vitamina C o il glutatione i quali fungono, in tal caso, da antiossidanti indiretti.

Altre funzioni svolte dalla vitamina E nell'organismo sono:

- Stabilizzazione delle membrane in quanto, impedendo la perossidazione degli acidi grassi polinsaturi presenti nei fosfolipidi, garantisce il mantenimento della permeabilità e fluidità indispensabili per i processi che, in esse, hanno luogo;
- controllo dell'aggregazione delle piastrine, sia inibendo la sintesi di alcune prostaglandine e del trombossano A₂, che hanno azione aggregante, sia mantenendo una giusta permeabilità delle loro membrane;
- modulando l'attività di enzimi, intervenendo sia direttamente come induttore o repressore della loro sintesi, sia indirettamente nei riguardi degli enzimi legati alle membrane (Cocchi M. et al., 2005),
- proteggendo le LDL dall'ossidazione, favorendo l'aumento dei livelli delle HDL;
- stimolando le cellule T e, dunque, aumentando il sistema di difesa immunitario.

Recenti studi epidemiologici e clinici hanno anche riscontrato anche il coinvolgimento della vitamina E nella prevenzione di malattie cardiovascolari, cancro, cataratte e anomalie neurologiche.

Carenza e tossicità

Situazioni di carenza in vitamina E non si riscontrano in individui normali. Infatti, la maggior parte delle diete ne contengono adeguate quantità. Di conseguenza, le sindromi da deficienza vitaminica sono state definite in individui con difetti metabolici.

Bambini ed adulti incapaci di assorbire o di utilizzare la vitamina E in modo adeguato possono sviluppare disordini ematologici come l'anemia emolitica, specie nei prematuri, disordini neurologici che coinvolgono il sistema nervoso centrale e periferico che si manifestano con disturbi della retina e dei muscoli.

I danni si sviluppano solo dopo diverso tempo, con livelli plasmatici di vitamina E estremamente bassi, al di sotto di 0,5 mg/dl.

Ha una tossicità più bassa rispetto alle altre vitamine liposolubili. Poiché viene talvolta utilizzata sotto forma di supplemento orale nella prevenzione di processi patologici nei quali sono implicati i radicali liberi, è stata testata la sua sicurezza d'uso. Si è visto che solo oltre certe quantità (2000 mg/d) alcuni soggetti mostrano disturbi, soprattutto a livello intestinale (Bendich et al., 1993).

La vitamina E nelle razioni per vacche da latte

Una tematica di rilevante interesse scientifico e pratico è quella di soddisfare i fabbisogni in vitamina E della vacca da latte. L'impiego sempre più frequente dei foraggi conservati, anziché freschi, figura tra i fattori capaci di porre l'animale in deficit di sostanze antiossidanti e della vitamina E, in particolare (Quarantelli A. et al., 2003).

E' noto, infatti, che i foraggi freschi di stagione sono ben dotati sia di β -carotene che di vitamina E. King et coll. (King R.L. et al., 1967), hanno accertato che la fienagione provoca perdite di vitamina E che possono raggiungere anche l'80% del contenuto iniziale, mentre la conservazione mediante insilamento sembra causare danni più contenuti.

Kivmac et Carpena (1973) hanno messo in evidenza che i foraggi insilati contengono solamente 1/5-1/6 della vitamina E presente nel foraggio fresco.

Le perdite di vitamina E e di β -carotene durante l'essiccazione del foraggio in campo possono raggiungere il 60% del totale entro 4 giorni e un altro 50%, della quota rimanente, può andare perso durante il primo mese di stoccaggio.

Numerose ricerche hanno messo in evidenza che il tenore di vitamina E presente nel sangue (plasma e/o siero) delle vacche è direttamente proporzionale al quantitativo di vitamina presente nella razione (Weiss W.P. et al., 1990; Baldi A. et al., 2000).

Nel plasma della vacca da latte la presenza di questa vitamina varia notevolmente in funzione di molti fattori, quali:

- la fase del ciclo produttivo in cui la vitamina viene testata. Essa è presente in quantitativi piuttosto scarsi durante il periodo del parto rispetto a quello della lattazione e della gestazione (McDowell L.R. et al., 1996);

- l'esposizione delle vacche allo stress da caldo riduce la presenza di α -tocoferolo nel sangue (Harmon R.J. et al., 1997). Elevate temperature incrementano, infatti, la perossidazione lipidica a livello epatico e l'attività degli enzimi coinvolti nella produzione di radicali liberi (Ando M. et al., 1997). McDowell e coll. (McDowell L.R. et al., 1996) ritengono che tenori plasmatici di vitamina E, oscillanti fra 0,5-1 mg/l, debbano essere considerati troppo bassi e che quote inferiori a 0,5 mg/l siano conseguenza di un evidente stato di carenza con gravi ripercussioni sia sullo stato di salute dell'animale, sia sulla qualità del latte prodotto.

Limitando l'attenzione alla vacca da latte, i principali vantaggi offerti dalla Vitamina E riguardano:

- lo stato di salute: riduce il rischio di malattie, soprattutto al tessuto mammario;
- la riproduzione: regola i cicli riproduttivi;
- la qualità del latte: riduce i fenomeni ossidativi del latte limitando il rischio di irrancidimento e riduce il numero di cellule somatiche.

2.6.2. β -CAROTENE

I carotenoidi sono terpenoidi, di solito a 40 atomi di carbonio, formati da otto unità isopreniche. Essi sono un gruppo di pigmenti, di colore dal giallo al violetto, molto diffusi in natura, non contengono azoto nella molecola e sono solubili nei grassi. Per esposizione alla luce, i carotenoidi naturali, in cui i doppi legami non ciclici sono sempre nella configurazione trans, possono trasformarsi in una miscela di stereoisomeri (isomerizzazione trans-cis) nei quali uno o più doppi legami, si sono spostati in posizione cis (Noziere P. et al., 2006).

I carotenoidi conferiscono una colorazione gialla ai cibi compreso il latte e formaggi. Il colore giallognolo del latte è una garanzia della sua provenienza da animali al pascolo (Prache S. et al., 2003). Un elevato contenuto di carotenoidi nel latte, se da un lato ha importanza dal punto di vista nutrizionale, dall'altro lato può giocare un ruolo importante nella shelf-life dell'alimento.

La quantità di carotenoidi nel latte dipende dalla quantità e dalla qualità dei foraggi. La concentrazione dei carotenoidi diminuisce con l'età del foraggio. Inoltre, i foraggi seccati al sole hanno una concentrazione minore di carotenoidi dovuto alle radiazioni solari che distruggono tutti i carotenoidi (Prache S. et al., 2003). La degradazione è favorita dalle elevate temperature e dalla presenza di ioni.

La concentrazione dei carotenoidi nel latte è determinata dalla natura e dalla quantità di foraggio, così pure dal trasferimento dalla matrice vegetale alla ghiandola mammaria (Noziere P. et al., 2006). I lipidi della dieta influenzano la solubilità dei carotenoidi e l'assorbimento nell'intestino. Esperimenti hanno dimostrato che l'assorbimento dei carotenoidi è tempo e dose-dipendente, inoltre si parla di trasporto facilitato attraverso la membrana essendo saturabile (During A. et al., 2005). Il contenuto dei carotenoidi nel latte dipende dal loro trasporto nel plasma e dal loro metabolismo nei tessuti (la conversione in vitamina A e l'utilizzazione come antiossidante), dalla loro conservazione nei tessuti adiposi o dalla sua secrezione nella bile (Borel P. et al., 2005). È noto che i carotenoidi hanno forte azione antiossidante: essi sono degli efficienti quencher biologici dell'ossigeno singoletto $1^{\circ}O_2$. L'ossigeno singoletto è capace di danneggiare DNA e di essere mutageno (Beutner S. et al., 2001). I carotenoidi sono tra i composti che meglio intrappolano (quencher) l'ossigeno singoletto con efficiente trasferimento di energia.

Il β -carotene ad alta pressione parziale di ossigeno, perde la sua attività antiossidante.

Nel latte di vacca principalmente troviamo all trans β -carotene e in misura minore luteina, zeaxantina, beta criptoxantina (Hulshof P.J.M. et al., 2006). Il retinolo nel latte esiste sotto forma di esteri. I valori delle concentrazioni di

carotene e retinolo nel latte, riportati in letteratura, variano tanto tra gli studi, rispettivamente da 1 a 17 per β carotene e da 1 a 12 $\mu\text{g/g}$ di grasso per retinolo (Martin B. et al., 2004). Altri fattori che influenzano la concentrazione di β carotene nel latte e nei suoi derivati è la razza, lo stato di salute della vacca e lo stadio di lattazione. Studi sperimentali su bovini allevati al pascolo, però con una integrazione di vitamina E, come antiossidante per migliorare la stabilità lipidica della carne, hanno dimostrato una diminuzione nel plasma e nei tessuti di β -carotene che può essere spiegata con una probabile diminuzione dell'assorbimento, o per una competizione tra le due vitamine per le lipoproteine (Yang A. et al., 2002).

β -Carotene precursore della vitamina A

Il β -carotene è stato da sempre considerato il carotenoide biologicamente più attivo, grazie alla possibilità di essere utilizzato come fonte di vitamina A da parte dell'organismo umano. Il β -carotene è trasformato in vitamina A a livello della mucosa intestinale, per mezzo di particolari reazioni enzimatiche. Tale trasformazione dipende da molteplici fattori, ad esempio dallo stato proteico, dagli ormoni tiroidei, dalla presenza di zinco e di vitamine C ed E. Perché il carotene venga assorbito nell'intestino, è richiesta la presenza di acidi biliari. Altri fattori inoltre possono favorire questo processo, come la presenza di grasso, proteine ed antiossidanti nel cibo ingerito, un adatto livello di enzimi pancreatici nell'intestino e l'integrità delle cellule della mucosa. Il carotene se non è subito convertito dalle cellule della mucosa intestinale a vitamina A, viene incorporato nei chilomicroni per essere trasportato nel sistema linfatico e poi, nel torrente sanguigno. L'assorbimento del β -carotene decresce all'aumentare della sua concentrazione. Di solito è trasportato nel plasma associato alle LDL. La conversione del carotene a vitamina A, avviene ad opera dell'enzima carotene diossigenasi che scinde in modo aspecifico uno qualunque dei doppi legami presenti nella molecola. Se la vitamina A è carente, l'organismo si adatta rallentandone il catabolismo.

L'assunzione giornaliera raccomandata di Vitamina A è 700-900 $\mu\text{g/dL}$. La Vitamina A ha un ruolo importante per la vista, per la crescita, per la riproduzione,

per il sistema immunitario e per il mantenimento delle ossa in salute così come della pelle e delle membrane mucosali.

2.7. FRAZIONE LIPIDICA

I **lipidi** (dal greco “lipos” = “grasso”) sono sostanze caratterizzate da insolubilità in acqua e solubilità in solventi organici non polari. Hanno diverse funzioni in natura, prima fra tutte, sono una importante fonte energetica, in quanto il loro apporto calorico è di 9 kcal/g, che viene trasformato in energia termica per mantenere costante la temperatura corporea, in energia meccanica per permettere la contrazione muscolare ed in energia chimica per consentire lo svolgimento delle funzioni biochimiche corporee.

I lipidi, pertanto, sono molto diffusi sia nel mondo animale che vegetale, in quanto rappresentano i componenti a più alta concentrazione energetica. Quelli più complessi svolgono funzioni biologiche delicate ed importanti, come precursori di molti ormoni ed inoltre, sono presenti in maggiori concentrazioni nei tessuti od organi complessi, come quelli riproduttivi, cerebrali, epatici, etc.

Considerando la frazione lipidica del latte bovino, quest'ultima presenta una percentuale di grasso che varia dal 3,5 al 4%, con ampie oscillazioni individuali e stagionali e si ritrova nel latte come emulsione sottoforma di globuli sferici, la cui sintesi avviene a livello delle cellule secernenti dell'epitelio della ghiandola mammaria (McPherson et al., 1983; Walstra et al., 1984; Danthine et al., 2000; Secchiari et al., 2002). Nelle altre specie lattifere, la percentuale può raggiungere anche punte dell'8% (latte ovino di alcune razze).

È la componente più variabile in funzione dello stadio di lattazione, dell'alimentazione, della razza, delle caratteristiche lattifere individuali e delle condizioni ambientali. La sostanza grassa è sintetizzata in parte nella ghiandola mammaria a partire da acidi grassi volatili sintetizzati nel rumine dei ruminanti (da C4:0 a C16:0), in parte da acidi grassi provenienti dalla dieta (C18:0).

Tale componente è mediamente rappresentato da:

- *trigliceridi* 98% (lipidi neutri);
- *fosfolipidi* 1% (lipidi complessi o polari);
- *sostanze insaponificabili* < 1%.

Chimicamente i **trigliceridi** derivano dall'esterificazione degli acidi grassi con un alcol trivalente, la glicerina. Pertanto a seconda del numero dei legami esterificati, i grassi si distinguono in trigliceridi (3 legami esterificati), digliceridi (2 legami esterificati) e monogliceridi (1 legame esterificato). Gli ultimi due sono presenti nel latte assieme ai trigliceridi rispettivamente intorno a 1,5 e 0,25% dei lipidi totali.

Per quanto riguarda la composizione in **acidi grassi**, il grasso del latte è uno dei componenti più complessi, essendo costituito da 150 acidi grassi diversi, presenta una proporzione pari a circa 2/3 di acidi grassi saturi ed 1/3 di acidi grassi insaturi ed una specifica proporzione elevata di acidi grassi volatili a basso peso molecolare.

Nel grasso del latte sono presenti principalmente gli acidi grassi a numero pari di atomi di carbonio compresi tra il C4:0 e il C20:0, mentre quelli a numero dispari sono presenti solo in tracce. Quasi tutti gli acidi grassi saturi hanno un numero pari di atomi di carbonio, dal momento che il punto di partenza della loro sintesi è l'acido acetico (C2:0) (Tab. 6). Inoltre quelli compresi tra C4:0 e C10:0 e una parte del C12:0 sono volatili, se presenti allo stato libero, cioè non esterificati con la glicerina e sono molto importanti, in quanto influenzano le caratteristiche organolettiche del latte e la qualità dei prodotti caseari, essendo, ad esempio, responsabili della formazione dell'aroma (Poveda et al., 1999). Soprattutto i primi due acidi volatili (butirrico e caproico) costituiscono la parte più caratteristica del latte dei ruminanti, sono solubili in acqua e rappresentano circa il 5% dell'insieme. Naturalmente nei non ruminanti, in cui l'utilizzazione dell'acido acetico nella mammella è molto meno intensa, la presenza di questi acidi volatili è inferiore.

Tabella 6. Principali acidi grassi del grasso di latte bovino (Salvadori del Prato, 1998)

| <i>categoria</i> | <i>n° di atomi di C % sul totale</i> | <i>stato fisico (temperatura di fusione, °C)</i> |
|---|---|--|
| Acidi grassi saturi CH ₃ -(CH ₂) _n -COOH 67% | | |
| Volatili solubili: | | |
| Butirrico | C _{4:0} 3- 4 (tr.) * | Liquido (- 8) ^A |
| Caproico | C _{6:0} 2-5 (tr.) | Liquido (- 3) |
| Volatili insolubili: | | |
| Caprilico | C _{8:0} 1 - 1,5 (tr.) | Liqu. Solido (+ 16) |
| Caprico | C _{10:0} 2 (2) | Solido (+ 30) |
| Laurico | C _{12:0} 3 (8) | Solido (+ 42) |
| Fissi: | | |
| Miristico | C _{14:0} 11 (10) | Solido (+ 54) |
| Palmitico | C _{16:0} 25 - 30 (23) | Solido (+ 62) |
| Stearico | C _{18:0} 12 (7) | Solido (+ 70) |
| Arachico | C _{20:0} 0,2 | Solido (+ 75) |
| Acidi insaturi 33 % | | |
| Monoeni: | | |
| Palmitoleico | C _{16:1} 2 (5) | Liquido (+ 0,5) |
| Oleico (<i>cis9</i>) | C _{18:1} 23 (35) | Liq. Solido (+ 16) |
| Vaccenico (<i>trans11</i>) | C _{18:1} 02-mar | Solido (+ 43) |
| Polinsaturi non coniugati: | | |
| (dieni) Linoleico | C _{18:2} 2 (8,5) | Liquido |
| (trieni) Linolenico | C _{18:3} 0,5 (2) | Liquido |
| (tetraeni) Arachidonico | C _{20:4} 0,2 | Liquido |
| Polinsaturi coniugati: | | |
| Dieni | C _{18:2} 0,8 | Liquido |
| Trieni e tetraeni | C _{18:3} -C _{18:4} tracce | Liquido |

(*) Tra parentesi alcune percentuali relative al latte umano

(^) Il punto di fusione dei trigliceridi è vicino a quello dell'acido grasso, nel caso degli acidi fissi.

Fra gli acidi grassi saturi, determinati mediante tecniche cromatografiche (GC, GC-MS, HPLC), il componente principale è l'acido palmitico (dal 25 al 30% sul totale degli acidi grassi), seguito dalle concentrazioni intermedie dell'acido stearico

e miristico (~12% e 11% rispettivamente), mentre fra gli acidi grassi insaturi, quello presente in maggiori concentrazioni è l'acido oleico (~23%) (Malacarne et al., 2001). Inoltre, sono presenti piccole quantità di acidi grassi monoinsaturi e polinsaturi, dienici e trienici, ed in particolare, questi ultimi rientrano nel gruppo degli acidi grassi considerati essenziali per l'alimentazione umana.

Una componente importante della frazione lipidica è rappresentata dai **fosfolipidi**, che si distinguono dai trigliceridi, in quanto sono lipidi polari che si ritrovano maggiormente legati alla membrana del globulo di grasso (circa il 60% dei fosfolipidi totali del latte) e presentano una parte lipofila, costituita da acidi grassi per lo più insaturi, esterificati ad una molecola di glicerolo, e una parte idrofila costituita da una molecola di acido fosforico legata ad una base azotata (Caboni et al., 1983). Tra i principali fosfolipidi del latte troviamo la lecitina, che ha come base organica la colina, le cefaline, che contengono etanolamina e le sfingomieline, con basi sfingosina e colina. Le lecitine sono eccellenti agenti emulsionanti e giocano un ruolo importante nella costituzione delle membrane dei globuli di grasso del latte, contribuendo a rendere stabile la sospensione della sostanza grassa.

Il **grasso del latte** è costituito, in concentrazioni modeste (0,5 % del totale degli acidi grassi), anche da cheto e ossiacidi e da lattoni derivanti dagli ossiacidi. Questi composti sono parzialmente responsabili dell'aroma del latte e dei prodotti lattiero-caseari e la loro concentrazione aumenta con il riscaldamento. La quota insaponificabile del grasso del latte è costituita da steroli, carotenoidi e vitamine liposolubili. Il più abbondante è il colesterolo (~0,3% del grasso, cioè 0,1 g/L di latte), che riveste una grande importanza nutrizionale come precursore di molti ormoni e della vitamina D. Esso agisce da emulsionante e stabilizzatore del grasso, mantenendo l'integrità funzionale delle membrane cellulari, di cui regola la fluidità e la permeabilità, ed ha un effetto parzialmente inibitore sulle lipasi. Gli steroli del latte, inoltre, sembrano strettamente associati alla lecitina, di cui regolano il potere idrofilo.

I **carotenoidi** sono i coloranti naturali del latte e dei latticini e il loro contenuto varia con l'alimentazione degli animali e quindi con l'andamento stagionale. Nel latte si trovano principalmente i caroteni isomeri α e β , la vitamina A ed una bassa concentrazione di xantofilla, di squalene e di licopene. I caroteni, come i grassi, sono protetti dall'ossidazione dei tocoferoli (vit. E), che a loro volta, svolgono la funzione di antiossidanti, ed in particolare, nel latte bovino il loro tenore è molto variabile (da 0,2 a 1,2 mg/L).

3. ALIMENTAZIONE DELLA VACCA AL PASCOLO

L'alimentazione dei ruminanti svolge un ruolo determinante sulla produzione quali-quantitativa del latte e influenza fortemente le caratteristiche chimico-fisiche ed organolettiche dei prodotti lattiero caseari da esso derivanti. L'allevamento di vacche da latte ad elevata produzione, si basa su modelli di tipo intensivo che prevedono la somministrazione, in ambiente confinato, di razioni ad elevata concentrazione energetica; è noto che tale forma d'allevamento, ha come unico obbiettivo la massimizzazione della produzione, ma ha tuttavia anche risvolti negativi, come ad esempio quello di indurre uno stato di stress metabolico sugli animali ed avere un grave impatto sull'ambiente. Per far fronte alle problematiche etico-sociali che ne conseguono, nei Paesi dell'Unione Europea è emerso un rinnovato interesse nei confronti dell'allevamento di tipo estensivo, che si basa sul pascolamento libero degli animali, quale modello produttivo che garantisce sia un maggiore benessere per gli animali che la salvaguardia ambientale.

Dal punto di vista nutrizionale, una corretta gestione dell'allevamento estensivo della vacca da latte, richiede la conoscenza della quantità e della qualità del pascolo ingerito dalla bovina. Infatti, a differenza dell'ambiente confinato dove gli animali ricevono razioni controllate, dal punto di vista quanti-qualitativo, il ricorso al pascolo pone l'animale ampia variabilità, considerando anche i possibili effetti negativi sulla produzione di latte, sia dal punto di vista quantitativo, che dal punto di vista qualitativo. Non è da escludere l'aspetto positivo che il pascolo induce sulla salute animale.

3.1. INGESTIONE E QUALITÀ DEL PASCOLO

La quantità di pascolo che la vacca ingerisce, risulta il principale fattore limitante della produzione di latte nell'allevamento estensivo (Leaver, 1968). Al pascolo, l'ingestione volontaria, viene regolata da meccanismi prevalentemente fisici, quali l'ingombro ruminale, considerando che l'animale non riesce quasi mai a soddisfare i propri fabbisogni energetici (Balch et al., 1965). L'ingestione

aumenta progressivamente con il miglioramento della digeribilità del foraggio, e raggiunge il limite più elevato in presenza della massima digeribilità dell'erba (Freer, 1981). I pascoli costituiscono un importante base alimentare dei bovini durante il periodo di disponibilità e spesso possono rappresentare la forma di foraggio più appetibile e di notevole valore nutritivo, tuttavia l'utilizzazione del pascolo è molto variabile in relazione a diversi fattori quali:

- **Stadio vegetativo**: incide principalmente sulla quantità di foraggio ottenibile e sulla qualità del valore nutritivo. Riguarda l'evoluzione biochimica delle piante, dalle fasi iniziali dello sviluppo fino alla maturazione dei semi ed alla senescenza, come conseguenza della differenziazione strutturale dei vari tessuti, del loro metabolismo e dei fenomeni di mobilitazione e distribuzione delle sostanze nutritive di riserva delle foglie verso semi ed altri organi (radici, rizomi), se si tratta di piante poliennali, (Bittante et al.,1990). Ad esempio se consideriamo la fibra, nelle erbe giovani, vi è un contenuto proteico riferito alla sostanza secca, del 20-23% PG, che è notevolmente più elevato del tenore in proteina delle stesse piante all'epoca della piena fioritura e della maturazione (13-8%). Ciò dipende dal maggior sviluppo della porzione fogliare e dalla intensa attività metabolica e sintetica della pianta. La proteina grezza, in questo stadio vegetativo, contiene una larga quota di sostanze azotate non proteiche, specialmente amminoacidi ed ammidi. Le erbe giovani, o comunque immature, contengono poca fibra grezza, (18-22% sulla s.s.) rappresentata da cellulosa quasi pura, in confronto ai foraggi maturi che ne contengono dal 30 al 35 %. In questi, oltre che al progressivo aumento del contenuto di cellulosa, si verifica il processo di lignificazione, che determina una progressiva diminuzione della digeribilità di tutte le sostanze nutritive, in particolar modo della fibra grezza. Se si considera il contenuto di carboidrati solubili, principalmente rappresentati da zuccheri, si nota una variabilità in rapporto alla specie (maggiore nelle graminacee e minore nelle leguminose) ed allo stadio vegetativo, ed oscilla mediamente dal 3-4% fino al 30% della sostanza secca.

Le erbe giovani sono ricchissime di vitamine, particolarmente caroteni e vitamine del complesso idrosolubile; l'alimentazione basata sul buon pascolo,

fornisce agli animali tutte le vitamine necessarie, ad eccezione della D (Bittante et al., 1990). In definitiva il valore nutritivo, riferito alla sostanza secca, è massimo negli stadi giovanili, mantenendosi elevato fino all'inizio della fioritura, per decrescere più o meno rapidamente a seconda della specie botanica e delle condizioni climatiche e pedologiche, che accelerano o ritardano lo stadio di maturità ed i fenomeni di invecchiamento delle piante (Bittante et al.1990).

- **Composizione floristica:** il pascolo naturale è costituito da un grande numero di specie erbacee, variamente assortite, in funzione dell'adattabilità di ciascuna alle condizioni climatiche e pedologiche. La composizione chimica, le proprietà nutritive e l'appetibilità sono specifiche di ogni essenza, per cui, come già è stato detto, il valore nutritivo del pascolo dipende strettamente dalla sua composizione floristica; si hanno, infatti, piante ad alto valore nutritivo e piante a modesto valore nutritivo, con la presenza talvolta, di essenze non desiderate e anche tossiche per l'animale (Bittante et al.1990).
- **Condizioni climatiche:** la temperatura e la piovosità condizionano la qualità e la quantità del pascolo, influenzando sia la composizione della flora pabulare, che lo sviluppo di ciascuna pianta (Gusmeroli F., 2004).
- **Fattori pedologici:** sono legati principalmente alla composizione chimica e strutturale del terreno, influiscono anch'essi sulla composizione quali-quantitativa della flora (Gusmeroli F., 2004).
- **Gestione:** le tecniche di pascolamento applicabili, si possono ricondurre a due modalità: il pascolo libero (brado o semibrado o vagante), dove il bestiame non ha (o ha poche) restrizioni di movimento, e il pascolo controllato (o guidato, o disciplinato) che comprende i sistemi di pascolo razionato, a rotazione e le loro varianti, dove le mandrie sono invece sottoposte a confinamento. Se nella prima circostanza sono gli animali a scegliere dove e come alimentarsi, nel pascolo controllato è implicita l'adozione di un piano di pascolamento (Gusmeroli F., 2004).

3.2. RIFLESSI NEGATIVI LEGATI AL PASCOLAMENTO

Quando gli animali vengono mandati al pascolo, bisogna considerare, prima di tutto, i riflessi negativi legati alla stessa tecnica di pascolamento, quali:

- ***Modeste assunzioni alimentari e dispendio energetico connesso all'attività locomotoria:*** il tempo dedicato all'attività locomotoria da parte dei bovini è in larga misura sottratto all'attività alimentare. Il bestiame, inoltre, si può trovare frequentemente a pascolare ove lo sviluppo del manto erboso, in altezza e densità, è incompleto, ciò che penalizza ulteriormente l'ingestione. La deambulazione comporta alti consumi energetici, soprattutto nelle bovine adulte, per le quali si stima un equivalente di 0.4-0.7 litri di latte per km di cammino, secondo le condizioni ambientali (quota altimetrica, acclività del terreno, ostacoli fisici etc). Considerando che una bovina può percorrere in una giornata anche 3-4 km e più di cammino, si può facilmente calcolare il relativo danno economico. Particolarmente penalizzate sono le buone lattifere, che già in condizioni favorevoli, raramente riescono ad assumere quantitativi di foraggio sufficienti a coprire il fabbisogno calorico: il ricorso alle riserve corporee può divenire ingente, con negativi riflessi sul peso vivo, sullo stato sanitario e su quello riproduttivo.
- ***Ingestibilità:*** il contrastante andamento della produzione e dei parametri nutritivi rende problematica l'individuazione del momento ottimale di utilizzazione del pascolo, obbligando ad un compromesso tra l'esigenza di massimizzare il rendimento quantitativo e quella di conservare una buona qualità al foraggio. Più sarà anticipato, migliori saranno il valore nutritivo e l'appetibilità del foraggio, a scapito della sostanza secca ed energia offerte per unità di superficie. Naturalmente, se si considera una razione composta esclusivamente o in larga misura dal pascolo, non è opportuno anticipare troppo l'utilizzo, perché si avrebbero eccessivi squilibri nei rapporti tra i nutrienti (eccesso proteico e carenza di fibra, ma anche squilibri minerali). La flessibilità della scelta è in linea generale superiore nelle cenosi di bassa quota, dove la

variabilità è più graduale e la fase di picco produttivo è assai più appiattita e prolungata. L'altitudine, comprimendo il ciclo vegetativo, obbliga ad una maggiore tempestività. Un elemento decisivo nel fissare il momento ottimale di utilizzazione è l'ingestibilità del foraggio. Allorché l'animale non ha possibilità di scelta, il consumo volontario è notoriamente condizionato dall'ingombro ruminale. L'ingombro, che influenza la velocità di degradazione e il turn-over ruminale, è a sua volta correlato (positivamente) al contenuto in pareti cellulari, ossia alla frazione neutro detersa della fibra. In presenza di elevate concentrazioni di NDF, il tempo di ruminazione si dilata proporzionalmente in ragione dell'esigenza di ridurre la dimensione delle particelle ingerite, mediante una più accurata masticazione. Con foraggi maturi, esso può superare le 10 ore giornaliere (Arnold e Dudzinsky, 1967; Van Soest, 1982), limitando così il tempo disponibile per il pascolamento attivo. Naturalmente, l'ingestibilità risente anche di altri fattori nutritivi, in particolare di squilibri e/o carenze nei contenuti energetici, proteici e minerali (fosforo in particolare), anche se sono soprattutto le elevate concentrazioni di fibra acido detersa (ADF) e di lignina (ADL) che possono limitare l'attività ruminale e i processi digestivi (Freer, 1981; Cavallero e Ciotti, 1991; Howery et al., 1998).

- ***Accentuazione degli squilibri nutritivi della razione:*** la razione di solo pascolo denuncia ordinariamente qualche sbilanciamento nutritivo, in particolare nei rapporti tra proteina, fibra e concentrazione energetica nei foraggi troppo giovani o troppo vecchi. Tali squilibri sono aggravati dall'utilizzo intempestivo dell'erba: il consumo precoce delle buone foraggere incrementa la densità nutritiva e proteica della dieta di inizio stagione; il consumo tardivo delle specie di minor valore pabulare rende invece, quella di tarda stagione voluminosa, poco appetita e poco digeribile;
- ***Deterioramento del pascolo:*** potendo circolare liberamente, gli animali vanno anzitutto, a scegliere le specie più gradite, che sono recise ripetutamente e in fase precoce, a danno dei ricacci e della fase riproduttiva. La flora indesiderata è invece consumata solo in parte e successivamente, quando ha già accumulato sufficienti scorte al colletto e nelle radici e ha già prodotto i semi. Anche se

limitatamente, bisogna inoltre, considerare l'azione di veicolamento e diffusione tramite le feci e gli zoccoli dei semi delle specie dannose e l'impossibilità a fertilizzare in modo corretto e omogeneo le superfici;

- ***Appetibilità***: nella valutazione delle prerogative foraggere del pascolo non si può trascurare l'appetibilità, la cui rilevanza si pone in relazione con la possibilità di selezione che il bestiame ha nelle condizioni di utilizzo diretto della fitomassa. L'appetibilità è una qualità di difficile stima. Già a livello di singola specie risulta condizionata da una quarantina di sostanze chimiche e da molteplici caratteri fisici della pianta (Arnold, 1967; Rieder et al., 1983; Peeters, 1989), che si modificano continuamente con lo sviluppo fenologico. Per alcune specie può inoltre, mutare con l'età dell'animale (Cantiani, 1985), con l'abitudine al pascolamento e con le condizioni meteorologiche. A livello di comunità il tutto è ulteriormente complicato, oltre che dalla diversità e dai rapporti quantitativi specifici, dal carico animale e altri fattori fitocenotici. In seguito è riportato un elenco ordinato delle principali variabili coinvolte che influenzano l'appetibilità del pascolo (+ positivamente; - negativamente) (mod.da Vallentine, 1990) (Tab. 7).

Tabella 7. Fattori che determinano l'appetibilità

Caratteri chimici delle singole specie

| | |
|----------------------------------|---|
| Contenuto i protidi e zuccheri | + |
| Contenuto in fibra e lignina | - |
| Contenuto in sostanze tanniniche | - |
| Contenuto in sostanze tossiche | - |

Caratteri fisici delle singole specie

| | |
|--|---|
| Dimensioni delle foglie | + |
| Rapporto foglie/steli | + |
| Presenze di spine altro ostacoli al prelievo | - |
| Abbondanza di fioritura | - |
| Umidità delle foglie | + |

Fattori ambientali

| | |
|--|---|
| Imbrattamento con deiezioni | - |
| Attacco di parassiti | - |
| Superficie del manto vegetale bagnato da rugiada | + |
| Temperatura aria | - |
| Età e abitudini dell'animale | ± |
| Carico animale | + |

Fattori fitocenotici

| | |
|-----------------------------------|---|
| Avanzamento ciclo vegetativo | - |
| Presenza specie aromatiche | ± |
| Presenza foraggiere scadenti | - |
| Combinazioni specie complementari | + |

Prescindendo dai fattori ambientali, l'appetibilità può ritenersi in linea di massima calante con l'avanzare del ciclo biologico della cenosi, in parallelo con il peggioramento dei parametri nutritivi e fisici delle principali piante componenti.

3.3. VANTAGGI DEL PASCOLO

Il benessere animale è un aspetto che contraddistingue notevolmente i due sistemi principali d'allevamento, al pascolo e in stalla, ed influisce pesantemente sulla qualità dei prodotti (Rubino, 2004). È ipotizzabile una notevole correlazione

fra benessere e qualità del prodotto: ad esempio, gli animali in stalla sono sottoposti a stress che aumentano la presenza nel loro organismo di radicali liberi che poi si ritroveranno nel latte e nella carne che mangiamo, con conseguenze certo non positive. Questo non succede con gli animali al pascolo (Rubino, 2004).

L'allevamento al pascolo offre diversi vantaggi sia economici che ambientali, rispetto ai sistemi di produzione convenzionale. In teoria gli allevatori che praticano questo sistema, riescono ad ottenere guadagni netti elevati in quanto hanno bassi costi di produzione. Se il pascolo è la fonte alimentare primaria, sono necessari meno macchinari e i costi di produzione del raccolto sono minori. In questo tipo di aziende, un più basso debito per vacca permette una maggior flessibilità economica e una massimizzazione del profitto in un più ampio margine di condizioni di costo/prezzo. Anche se la produzione di latte, per vacca, tende ad essere significativamente più bassa per gli allevatori che praticano l'allevamento al pascolo, tuttavia il profitto, per vacca, è spesso tra quelli più elevati se si considera la trasformazione casearia.

Da non sottovalutare l'impatto ambientale causato dalle grosse stalle di vacche da latte. Negli Stati Uniti è un problema già esistente, dove si hanno peggioramenti della qualità dell'acqua, dovuta alla contaminazione con pesticidi, e la presenza di odori e mosche. Queste, infatti, sono tutte preoccupazioni reali per coloro che vivono in prossimità di queste grosse aziende.

In alternativa, una stalla che pratica il pascolo può prevenire la maggior parte di queste preoccupazioni e migliorare l'aspetto del paesaggio rurale. Poiché spesso fieno e pascolo sono le uniche coltivazioni, la terra non viene lavorata ogni anno e vengono usati pochi pesticidi. Le vacche fuori al pascolo spargono il loro stesso letame di modo che, a parte una piccola quantità di acqua per il lavaggio dove si munge e di letame raccolto non si producono grosse quantità di rifiuti che bisogna accumulare e poi spargere. Inoltre, le aziende agricole di vacche da latte mantengono una copertura verde e in crescita che assorbe nutrienti e previene il dilavamento durante tutto l'anno. L'allevamento al pascolo, se combinato con un

programma stagionale, ha il potenziale di diventare un potente strumento per la protezione del territorio agricolo e la rivitalizzazione delle comunità rurali.

Altri aspetti benefici dell'alimentazione al pascolo sono legati, innanzitutto, al fatto che il ricorso al pascolo rappresenta poi un'occasione di esercizio fisico che permette di mantenere quel grado di turgore muscolare indispensabile per una buona capacità di deambulazione e funzionalità di tutto il corpo; non si deve poi tralasciare l'aspetto economico, visto che il pascolo rappresenta una fonte alimentare a bassissimo costo se non nullo. Molti allevatori hanno osservato che il cambiamento a favore di un sistema basato sul pascolo, migliora lo stato di salute della mandria. Portare la vacca fuori dalla stalla ne migliora il benessere. I pascoli erbosi sono più asciutti e più puliti delle stalle, e il foraggio fresco e ben gestito è più nutriente. Gli allevatori riferiscono di non riscontrare più le polmoniti, le diarree e le mastiti che avevano quando i loro animali erano allevati in stalle ad elevate entrate energetiche.

3.4. ESSENZE E SPECIFICITA' DEL PASCOLO RAGUSANO

I pascoli naturali sono da sempre caratterizzate dalla presenza di molte specie spontanee, ognuna delle quali ha specifici cicli biologici di crescita, ne consegue una diversa composizione floristica sia all'interno, che tra le diverse stagioni foraggere. (Licitra et al., 2001). La composizione delle essenze foraggere di ogni pascolo dipende dalle condizioni pedo-climatiche e dagli interventi dell'uomo, come le semine, le rotazioni colturali, l'intensità di pascolamento e le somministrazioni di fertilizzanti. I pascoli in generale sono ritenuti importanti sia da un punto di vista naturalistico, vista la grande varietà di essenze che custodiscono, sia dal punto di vista zootecnico per l'alimentazione degli animali, in quanto esiste una notevole influenza delle essenze spontanee nelle caratteristiche peculiari del latte. Quindi, è necessaria una corretta gestione dei pascoli per avere un' importante strumento di controllo e di tutela.

In particolare il territorio ibleo è da sempre caratterizzato dalla presenza di numerose aziende di piccole dimensioni, spesso a conduzione familiare,

caratterizzato da un numero limitato di capi, la cui alimentazione è costituita essenzialmente dal pascolo. Dopo aver trattato gli aspetti generali dei pascoli, sembra opportuno dedicare una parte specifica legata alle peculiarità del pascolo ragusano che sebbene non esula dai principi cardini che abbiamo sin ora dettato, possiede pur sempre una sua specificità in termini di composizione botanica e relativo valore nutritivo.

I pascoli iblei sono caratterizzati dalla presenza di molte essenze spontanee, ognuna delle quali presenta specifici cicli biologici di crescita, per cui esse sono variamente rappresentate nelle diverse stagioni. Tramite vari studi effettuati, si è arrivati all'individuazione di più di 100 specie spontanee appartenenti a 26 famiglie botaniche diverse; alcune delle quali (circa il 30%) presenta un'incidenza percentuale della biomassa, stimata durante l'intera stagione foraggera, inferiore allo 0,5%. (Licitra et al.,1995).

Di seguito vengono presentate le specie più importanti appartenenti alle diverse famiglie (Graf. 3).

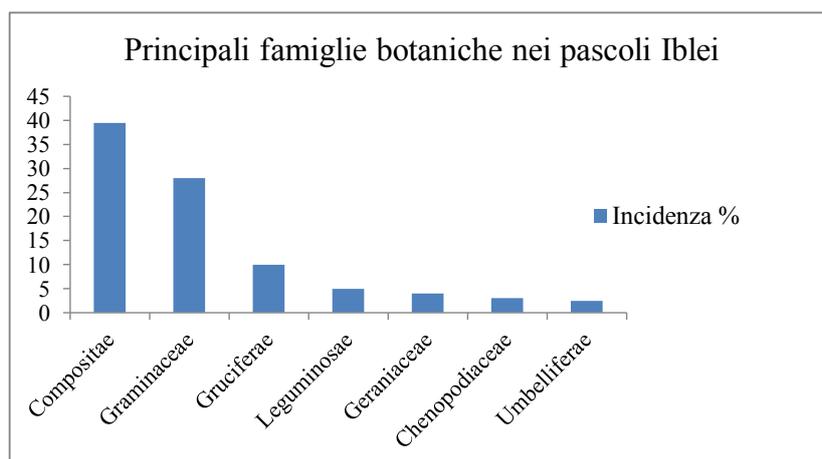


Grafico 3. Incidenza % delle principali famiglie di essenze foraggere spontanee dei pascoli iblei (Licitra 1995, modificato)

Si evidenzia che nei suoli sottoposti a seminativo o a riposo, persiste la presenza di specie autoriseminanti di particolar pregio. Esse, sono sotto il profilo pascolativo, molto appetite dagli animali e in grado di incrementare tutte le produzioni zootecniche sia per quanto concerne il latte che la carne.

In particolare nelle principali famiglie di essenze foraggere spontanee troviamo:

Asteraceae o Compositae

- *Calendula arvensis*;
- *Chrysanthemum coronarium*;
- *Cardus spp.* ;
- *Centaurea calcitrapa*;
- *Cichorium intybus*;
- *Hedypnois cretica*;
- *Hyoseris scabra*;
- *Hyoseris radiata*;
- *Hypochoeris achyrophorus*;
- *Senecio vulgaris*;
- *Sonchus oleraceus*.

Boraginaceae

- *Borago officinalis*;
- *Cerithe maior*.

Caryophyllaceae

- *Silene colorata*;
- *Cerastium glomeratum*:

Chenopodiaceae

- *Beta vulgaris*.

Cruciferae

- *Biscutella lyrata*;
- *Capsella bursa-pastoris*;
- *Diplotaxis eruroides*;
- *Raphanus raphanistrum*;
- *Sinapis arvensis*.

Euphorbiaceae

- *Euphorbia Helioscopia*.

Fabaceae

- *Astragalus hamosus*;
- *Lotus ornatopodioides*;
- *Lotus edulis*;
- *Lotus spp*;
- *Medicago hispida*;
- *Medicago orbicularis*;
- *Medicago scutellata*;

- *Medicago truncatola*;
- *Medicago spp*;
- *Scorpiurus subvillosus*;
- *Trifolium spumosum*;
- *Trifolium stellatum*;
- *Trifolium nigrescens*;
- *Ornithogalum montanum*
- *Allium nigrum*

Labiatae

- *Marrubium vulgare*.

Malvaceae

- *Malva sylvestris*.

Geraniaceae

- *Geranium rotundifolium*;
- *Erodium spp*;
- *Erodium malacoides*;
- *Erodium moschatum*.

Oxalidaceae

- *Oxalis pes – caprae*.

Plantaginaceae

- *Plantago psyllum*.

Polygonacea

- *Rumex bucefalophorus*.

Graminaceae

- *Bromus rubens*
- *Avena barbata*
- *Lolium rigidum*
- *Hordeum leprinum*
- *Vulpia ciliata*

Primulaceae

- *Anagallis arvensis*.

Ranunculaceae

- *Adonis annua*.

Liliaceae

- *Asphodeline lutea*

Umbelliferae

- *Ferula communi*;
- *Smyrniium spp*.

3.5. INFLUENZA DEL PASCOLO SULL'AMBIENTE E SUL LATTE

Non tutte le sostanze che si trovano negli alimenti degli animali saranno poi presenti nel latte, se non altro perché una parte le utilizzano gli animali stessi, risulta invece chiaro che la “povertà” o la “ricchezza” di questi alimenti influirà direttamente sulla qualità del prodotto (latte, formaggio, ecc.) (Rubino et al., 1997), conferendo pigmenti, aromi e profumi tipici che caratterizzeranno in maniera assoluta e definitiva il prodotto finito (Bastasin e Ceresa, 1997).

L'alimentazione delle vacche da latte può influenzare il colore del formaggio. La variazione di colore stagionale di un formaggio è relativa ai cambiamenti della quantità di β -carotene nel latte (Kosikowski e Mistrà, 1997). In generale il consumo di pascolo aumenta la quantità di carotenoidi in generale, in modo particolare di β -carotene, in maniera soddisfacente sia nel latte sia nel formaggio.

L'odore dell'alimento entra nel corpo dell'animale attraverso l'apparato digerente o il sistema respiratorio, passa nel sangue, nella mammella e quindi nel latte. Un alimento quindi non deve essere necessariamente ingerito, ma può essere sufficiente che i composti volatili vengano inalati dall'animale, per poter causare odore sgradevole nel latte. Sostanze volatili inalate possono comparire nel latte dopo 15 minuti mentre sono necessari almeno 45 minuti, per le sostanze ingerite (Shipe, 1964).

L'aroma del latte prodotto da vacche alimentate su pascolo, dipende quindi, sia dalla disponibilità delle singole essenze in campo e inoltre, dalla loro appetibilità (Carpino et al., 2003).

Le caratteristiche uniche di alcuni formaggi sono date dalle condizioni ambientali (clima, paesaggio, stalla, attrezzature per la caseificazione, etc...) in cui avviene la stessa produzione dei formaggi (Urbach, 1990). Uno studio recente (S. Carpino et al., 2004) ha avuto come obiettivo quello di determinare se l'inclusione di pascoli in una dieta per vacche da latte, cambia il colore, l'odore, il gusto, la consistenza e la struttura di un formaggio, in particolare del Formaggio Ragusano D.O.P.. In particolare sono stati formati due gruppi studio, un gruppo di vacche alimentate con solo pascolo e un gruppo con solo TMR (Total Mixed Ration).

Per quanto riguarda il colore, nel gruppo di vacche alimentate solo al pascolo, i formaggi ottenuti avevano un colore molto più giallo, evidenziando così un trasferimento di sapore e residui di colore tipico della zona dove il formaggio è stato prodotto, dovuto principalmente alla quantità più elevata di β -carotene e carotenoidi. (S. Carpino et al., 2004). Ad esempio, per quanto riguarda l'odore, vi è stata una notevole differenza tra il gruppo pascolo e il gruppo TMR. Infatti, la frequenza di odore floreale e di verde è stata maggiore nei formaggi ottenuti da animali allevati al pascolo. Quindi, è scontato che l'alimentazione al pascolo influisce complessivamente, anche sulla caseificazione. In generale però, l'attitudine alla caseificazione del latte dipende da molteplici fattori, ma in primo luogo, risulta influenzata dal contenuto e dal profilo proteico dello stesso. Di tutti i componenti azotati, la caseina rappresenta la proteina più abbondante nel latte vaccino e quella che ne determina le caratteristiche più idonee alla caseificazione. Vari fattori influenzano il contenuto caseinico in toto e il rapporto tra le varie frazioni, tra i principali si possono elencare: la costituzione genetica, la situazione fisiologica dell'animale, lo stadio di lattazione, la stagione (Bertoni G., Calamari L., 2000). Tuttavia secondo vari autori, si hanno sufficienti indicazioni per poter affermare che il tenore in caseina ed il suo profilo, possono essere influenzati anche dal fattore alimentare.

Studi condotti da Grandison et al., (1984), (1985) indicano, nel passaggio dall'alimentazione secca a quella con pascolo, un aumento di caseina, un maggiore tenore in α S-caseina e di β -caseina, mentre non hanno osservato un significativo aumento di k-caseina. La frazione α S si lega al calcio per formare aggregati, la frazione β è in grado di formare polimeri lineari (Corradini C., 1995), la frazione k a differenza delle precedenti è ricca in A.A. solforati ed è caratterizzata dalla presenza di una parte idrofila che lega una porzione glucidica la quale, reagendo con la rennina si stacca riducendo la solvatazione delle micelle che interagiscono e precipitano. (Bastasin, Ceresea, 1997). Studi più recenti di Auld M.J. et al., (2000), effettuati su vacche a diverso potenziale genetico, alimentate al pascolo con due schemi sperimentali: pascolo a volontà e pascolo razionato; hanno evidenziato che per entrambi i gruppi indipendentemente dal genotipo, un maggiore intake di

pascolo influisce positivamente sulla produzione di latte, ma in particolare sul contenuto proteico, su quello caseinico e su quello delle varie frazioni α - β - γ - κ .

3.6. EFFETTO DEL PASCOLO SUL CLA

Riguardo all'influenza positiva del pascolo sulla qualità del latte, bisogna considerare l'interesse verso i così detti cibi funzionali, ossia quei cibi che uniscono alle proprietà nutrizionali, altre importanti proprietà salutistiche. In questa categoria rientrano a pieno titolo i prodotti lattiero-caseari, in quanto rappresentano la principale fonte di acido linoleico coniugato (CLA) della dieta umana.

Come noto i ruminanti hanno la capacità di produrre CLA attraverso due vie: la bioidrogenazione ruminale dell'acido linoleico, o attraverso la desaturazione a livello dei tessuti di un composto intermedio, prodotto sempre a livello ruminale ed ivi assorbito, che è il trans-11 C18:1 o acido vaccenico (Bauman et al., 1999).

Molte delle proprietà chimico fisiche, delle caratteristiche produttive ed organolettiche del latte e nei suoi derivati, sono da attribuire ai lipidi. Questi, variano in funzione dell'alimentazione e delle condizioni ambientali (Palmquist, et al., 1993; Sutton, 1989). Recentemente, è stato dimostrato che i lipidi presenti nei prodotti lattiero caseari, possono giocare un ruolo fondamentale nella prevenzione di diverse patologie (Miller, 1999), in particolare l'acido coniugato linoleico (CLA), un componente dei grassi del latte, che si è dimostrato efficace nel diminuire lo sviluppo di alcuni tipi di cancro e cardiopatie, e sembra attualmente che aiuti a ridurre il grasso corporeo ed aumenti la massa muscolare corporea.

E' stato dimostrato che la quantità di CLA nel latte e nei formaggi, varia in funzione dell'alimentazione dell'animale (pascolo-stalla). In particolare, quando i pascoli sono lussureggianti e ricchi in acidi grassi polinsaturi, la bioidrogenazione può attivarsi su un abbondante substrato e conseguentemente è favorita anche la produzione di CLA (Bauman et al., 1999). Quindi, i derivati del latte prodotto da animali al pascolo, contengono livelli più elevati di molecole biologicamente attive rispetto a quelle ottenute da animali allevati in stalla, infatti, le proprietà

organolettiche di un formaggio sono fortemente legate al tipo di essenze spontanee presenti nei pascoli, come il caso del formaggio Ragusano D.O.P. e dei pascoli iblei, dove queste sono fortemente caratterizzate da un elevato numero di composti secondari, la cui determinazione ha permesso di evidenziare la relazione positiva che esiste tra pascolo e qualità dei prodotti lattiero-caseari.

L'alimentazione, comunque, non sembra essere l'unico fattore ad influenzare il contenuto in CLA nel latte, nei tessuti muscolari o nelle produzioni zootecniche, ma la variabilità del CLA nel latte, sembra essere legata anche alla razza (Secchiari et al., 2001). Il contenuto di CLA del latte è cinque volte più alto quando le vacche durante la stagione foraggera, rispetto a quando sono alimentati in stalla con il 50% di insilati di erba medica e silomais e con il 50% di concentrati (Antongiovanni M., Buccioni A., Mele M., 2001). Alcuni ricercatori hanno trovato che aumentando la quantità di insilati somministrati alle vacche, aumenta il contenuto di CLA nel latte, ma nonostante questo, tale concentrazione non raggiungerà mai i valori di CLA di un latte prodotto da vacche alimentate al pascolo (Antongiovanni M., 2001).

PARTE SPERIMENTALE

4. INTRODUZIONE

Negli ultimi tempi l'attività agricola si è prevalentemente orientata verso modelli di massimizzazione ed esaltazione di processi produttivi. L'allevamento estensivo, da un punto di vista alimentare, usufruisce ampiamente di foraggi, contrapponendosi ai modelli intensivi, basati su razioni specifiche ed elevati livelli di meccanizzazione, che non sempre sono ecocompatibili o comunque ben inseriti nel territorio.

Basti pensare alle problematiche di carattere etico-sociale dell'allevamento intensivo, sia per gli effetti indotti sulle condizioni di vita degli animali che per l'impatto ambientale dell'attività zootecnica. Al contrario, come già accennato, l'allevamento estensivo tiene in conto un maggiore benessere animale e una maggiore salvaguardia ambientale, diventando caratteristica imprescindibile per l'ottenimento di prodotti di qualità.

L'alimentazione, in particolare, influenza notevolmente la composizione lipidica del latte. In particolare, diversi studi (Martin et al., 2005) hanno dimostrato che il pascolo a differenza della stabulazione fissa, per la presenza di una grande varietà di essenze, influenza notevolmente le caratteristiche peculiari del latte, arricchendolo sia in componenti aromatiche sia in sostanze nutraceutiche; inoltre la correlazione tra l'alimentazione delle bovine e la produzione quanti-qualitativa del latte è stata riportata in letteratura da Shipe et al. (1962), Urbach (1990), Mariaca et al. (1997). Schovic (1991) e Mariaca et al. (1997) e afferma l'importanza del pascolo sul profilo aromatico dei prodotti lattiero caseari, confermando che i composti volatili si originano in grande quantità quando gli animali si alimentano al pascolo. Il latte proveniente da animali al pascolo è particolarmente ricco di vitamine tra cui la vitamina E, l'antiossidante liposolubile per eccellenza al quale è attribuito il ruolo di protezione dei lipidi dai fenomeni di ossidazione che avvengono sia a livello dell'alimento che a livello cellulare. Sebbene il pascolo, quando disponibile, costituisca un'importante base alimentare, risulta molto variabile in relazione allo stadio vegetativo e alla composizione floristica. Infatti, la concentrazione delle vitamine (tocoferoli e carotenoidi) è elevata nelle erbe giovani, mantenendosi tale fino alla fioritura, mentre decresce più o meno

rapidamente nelle erbe più mature a secondo della specie botanica e delle condizioni climatiche e podologiche (Nozière et al., 2006).

La razza può avere anche effetti sulla produzione lattiero-casearia. Ferreira et al.(2009) ha condotto uno studio sul formaggio Castel Branco DOP prodotto la latte ovino, intero, crudo di razze differenti. In questo studio Ferreira et al. hanno constatato che le caratteristiche sensoriali del formaggio dipendono dalla razza. Coulon et al. (2004) riportano effetti della razza Frisona e delle vacche di razza Montbéliarde sul formaggio Saint-Nectaire cheese e sul formaggio molle Pont l'Evêque. Il formaggio Saint-Nectaire differisce solo in struttura e colore, ma non nel profilo sensoriale. Il formaggio Pont l'Evêque ha un gusto e un aroma più intenso quando viene usato il latte delle bovine Montbéliarde's rispetto al latte di frisona.

Ragusa, è la più importante provincia siciliana per la produzione di latte e formaggi, in particolare per la produzione del Ragusano DOP, un formaggio a pasta filata prodotto nell'area iblea. È prodotto essenzialmente da latte di frisona, bruna e modicana dall'autunno fino alla primavera, quando il pascolo è disponibile. Sono stati studiati gli effetti della nutrizione delle bovine sulle caratteristiche sensoriali del Ragusano DOP, ma non del latte (Carpino et al. 2004).

Lo scopo della ricerca è stato quello di analizzare gli effetti dell'alimentazione al pascolo e l'effetto razza sulle componenti volatili, sui composti liposolubili antiossidanti e sul contenuto vitaminico nel latte nel corso di tre stagioni (primavera, estate, autunno) in cui è stata condotta l'attività sperimentale.

5. MATERIALI E METODI

5.1. SCELTA DELLE AZIENDE E DISEGNO SPERIMENTALE

Sono state selezionate aziende produttrici di formaggio Ragusano DOP, scelte perché questo formaggio è regolamentato da un disciplinare che prevede la sua produzione durante la primavera e l'autunno quando le vacche sono alimentate prevalentemente al pascolo e con un'integrazione in stalla di fieno e concentrati.

Nelle stesse aziende, durante l'estate, il formaggio non viene prodotto a causa dell'esaurimento del pascolo, e le vacche vengono alimentate in stalla solo con fieno e concentrati.

Gli allevamenti sono stati scelti in zone abbastanza vicine. Due di queste aziende avevano animali sia di razza Frisona (H) che di Bruna (BS) mentre le altre allevavano esclusivamente Modicana (M).

5.2. DURATA E DATE DEGLI ESPERIMENTI E RILIEVI

Il progetto si è svolto tra Marzo e Dicembre 2010, in coincidenza ai periodi di maggiore disponibilità di pascolo per gli animali (primavera e autunno) e ai periodi di secco (estate).

I prelievi di pascolo e degli alimenti utilizzati in stalla per il controllo del piano alimentare e della produzione di latte, si sono svolti con il seguente calendario e con un programma settimanale stabilito (Tab.9), per un totale di 12 rilievi e prelievi completi per azienda (Tab.8):

Tabella 8. Calendario dei prelievi

| <i>tipologia</i> | <i>n°settimana</i> | <i>data</i> |
|------------------|--------------------|---------------------|
| Primavera | 1°Settimana | 22-23-24/03/2010 |
| | 2°Settimana | 07-08-09/04/2010 |
| | 3°Settimana | 13-14-15/04/2010 |
| | 4°Settimana | 27-28-29/04/2010 |
| Estate | 5°Settimana | 22-23-24/06/2010 |
| | 6°Settimana | 29-30/06-07/07/2010 |
| | 7°Settimana | 06-07-08/07/2010 |
| | 8°Settimana | 12-13-14/07/2010 |
| Autunno | 9°Settimana | 09-10-11/11/2010 |
| | 10°Settimana | 16-17-18/11/2010 |
| | 11°Settimana | 23-24-25/11/2010 |
| | 12°Settimana | 30-01-02/11-12/2010 |

Il programma settimanale era il seguente:

Tabella 9. Programma settimanale dei prelievi

| azienda C e D (razza Modicana) | azienda A (razza Frisona e Bruna) | azienda B (razza Frisona e Bruna) |
|-----------------------------------|--------------------------------------|--------------------------------------|
| Martedì | Mercoledì | Giovedì |

La mattina antecedente il prelievo serale del latte, veniva effettuato il prelievo del pascolo presente in campo.

5.3. ANALISI DEL LATTE

I campioni di latte di massa per le 4 aziende/razze sono stati prelevati dalla mungitura della sera. Il latte veniva campionato in bottiglie da 500 ml e successivamente veniva avvolto in foglio di alluminio per proteggerlo dalla luce, conservato a 4 ° C fino al giorno successivo previsto per l'analisi.

I campioni di latte di massa sono stati analizzati tramite:

- MilkoScan TM Minor (FOSS, Italy) per valutare il contenuto in grasso e in azoto totale (proteine);
- FossomaticTM(Foss, Italy) , per la conta delle cellule somatiche.

5.4. PASCOLO E ALIMENTI ZOOTECNICI

Per i prelievi del pascolo, sono stati scelti a random dei metri quadri sperimentali, con il seguente piano:

- raccolta delle essenze foraggere su 3 metri quadri sperimentali, scelti a random nel campo dove si alimentavano le vacche, prestando attenzione di evitare le zone dove è presente il cardo, in quanto è una specie non appetibile per le bovine (Carpino et al.2003). Le essenze venivano tagliate al colletto (Foto 5 e 6).
- Identificazione e separazione in campo delle essenze foraggere con contestuale classificazione in “specie minori” di quelle essenze rare o poco rappresentate, difficili da identificare e separare. L’identificazione e la separazione delle singole essenze veniva effettuata in campo perché durante il trasporto in laboratorio si poteva verificare il deterioramento delle piante stesse e quindi risultavano più difficili da identificare;
- Rilevamento dello stadio biologico;
- Trasferimento dei campioni, in laboratorio, opportunamente conservati in borse frigo;
- Calcolo del peso e dell’incidenza percentuale delle singole essenze e successivamente delle famiglie botaniche di appartenenza, rispetto alla biomassa del campione raccolto (umida).
- Le singole essenze rilevate nell’ambito dei prelievi sperimentali sono state classificate per famiglia, ordine e specie, e stadio vegetativo, con l’ausilio di

uno stereoscopio binoculare ed usando le chiavi analitiche del Pignatti (1982). Ogni specie è stata identificata con il binomio di Linneo, secondo le regole internazionali del Codice di Nomenclatura Internazionale (Pignatti, 1982). Ad ogni specie è stato attribuito il corrispondente nome italiano.



Foto 5. Metro quadro sperimentale prima del prelievo



Foto 6. Metro quadro sperimentale dopo il prelievo

- Il pascolo e le varie integrazioni (mangimi e fieni, ecc...), sono stati prelevati per le varie analisi.

5.4.1. ANALISI DI LABORATORIO

Per ogni prelievo, il pascolo e gli alimenti somministrati in stalla come fieni e concentrati, sono stati campionati per effettuare le analisi chimiche (, di seguito indicate:

Tabella 10. Analisi chimiche sui campioni di pascolo, mangimi e fieni prelevati durante il periodo sperimentale.

| | data | Azienda | classificazione | SS 60°C | SS 103°C | CENERI ¹ | PG ¹ | NDFc ¹ | ADF ¹ | ADL ¹ |
|------------|------------|------------|-----------------|---------|----------|---------------------|-----------------|-------------------|------------------|------------------|
| Primavera | 22/03/2010 | A | Pascolo | 17,58 | 90,37 | 12,95 | 18,13 | 27,66 | 25,08 | 7,39 |
| | 23/03/2010 | C | Pascolo | 19,91 | 91,06 | 10,15 | 18,01 | 30,92 | 26,25 | 6,67 |
| | 23/03/2010 | D | Pascolo | 16,12 | 90,32 | 10,54 | 17,69 | 30,68 | 28,02 | 7,45 |
| | 24/03/2010 | B | Pascolo | 18,96 | 90,99 | 10,75 | 21,79 | 26,94 | 24,10 | 7,47 |
| | 30/03/2010 | A | Mangime | | 87,12 | 4,61 | 10,32 | 18,21 | 4,92 | 1,86 |
| | 30/03/2010 | D | Fieno | | 89,42 | 8,28 | 14,05 | 54,29 | 34,15 | 7,21 |
| | 30/03/2010 | D | Mangime | | 87,12 | 6,93 | 18,35 | 17,95 | 6,22 | 1,86 |
| | 06/04/2010 | C | Pascolo | 19,73 | 88,54 | 10,52 | 14,17 | 30,53 | 23,06 | 4,91 |
| | 06/04/2010 | D | Pascolo | 21,40 | 88,15 | 8,79 | 18,14 | 31,52 | 21,27 | 5,69 |
| | 07/04/2010 | A | Pascolo | 22,58 | 88,05 | 9,26 | 18,75 | 27,47 | 19,84 | 5,83 |
| | 08/04/2010 | B | Pascolo | 23,25 | 90,21 | 9,33 | 17,51 | 24,21 | 20,26 | 6,45 |
| | 12/04/2010 | C | Pascolo | 21,68 | 93,10 | 9,84 | 13,83 | 39,38 | 24,70 | 3,96 |
| | 13/04/2010 | D | Pascolo | 23,86 | 90,92 | 8,68 | 16,49 | 33,65 | 25,70 | 4,35 |
| | 13/04/2010 | A | Pascolo | 24,60 | 90,94 | 7,99 | 16,00 | 36,28 | 25,92 | 4,39 |
| | 14/04/2010 | B | Pascolo | 24,16 | 90,71 | 9,28 | 18,70 | 31,59 | 22,80 | 2,90 |
| | 26/04/2010 | C | Pascolo | 25,90 | 91,19 | 6,98 | 12,50 | 44,98 | 31,30 | 6,05 |
| | 26/04/2010 | D | Pascolo | 30,79 | 91,50 | 7,53 | 11,40 | 49,94 | 32,26 | 5,13 |
| | 28/04/2010 | A | Pascolo | 25,81 | 91,26 | 9,41 | 13,70 | 42,20 | 29,90 | 5,75 |
| | 28/04/2010 | B | Pascolo | 27,68 | 91,10 | 8,85 | 13,20 | 41,32 | 30,64 | 6,17 |
| | Estate | 25/06/2010 | B | Fieno | | 90,96 | 8,66 | 7,80 | 54,72 | 34,55 |
| 25/06/2010 | | B | Mangime | | 88,57 | 7,85 | 21,17 | 14,55 | 7,16 | 1,40 |
| 05/07/2010 | | A | Fieno | | 92,32 | 19,03 | 4,45 | 51,32 | 39,28 | 6,62 |
| 05/07/2010 | | D | Mangime | | 88,32 | 7,52 | 19,68 | 16,83 | 6,90 | 1,81 |
| 10/11/2010 | | C | Pascolo | 18,50 | 88,15 | 14,78 | 15,30 | 23,60 | 23,60 | 5,24 |
| Autunno | 11/11/2010 | D | Pascolo | 12,19 | 87,38 | 11,14 | 16,50 | 22,60 | 19,23 | 5,96 |
| | 12/11/2010 | B | Pascolo | 13,19 | 88,61 | 8,25 | 15,00 | 28,96 | 28,00 | 5,98 |
| | 12/11/2010 | A | Pascolo | 14,80 | 90,59 | 12,59 | 14,20 | 34,11 | 21,45 | 6,07 |
| | 15/11/2010 | D | Fieno | | 87,02 | 6,01 | 6,30 | 53,08 | 39,87 | 7,21 |
| | 15/11/2010 | D | Mangime | | 86,81 | 7,64 | 19,60 | 16,61 | 13,21 | 2,21 |
| | 15/11/2010 | C | Fieno | | 88,00 | 6,27 | 7,00 | 53,79 | 39,21 | 7,86 |
| | 15/11/2010 | B | Fieno | | 87,27 | 5,93 | 9,30 | 53,37 | 39,45 | 8,11 |
| | 15/11/2010 | B | Mangime | | 87,71 | 8,16 | 18,30 | 9,49 | 12,98 | 1,90 |
| | 17/11/2010 | D | Pascolo | 15,48 | 95,10 | 13,51 | 15,80 | 37,98 | 29,65 | 8,10 |
| | 17/11/2010 | A | Pascolo | 12,82 | 94,76 | 17,63 | 15,80 | 27,32 | 25,32 | 5,69 |
| | 19/11/2010 | C | Pascolo | 13,65 | 93,31 | 15,54 | 16,30 | 33,47 | 24,12 | 6,05 |
| | 19/11/2010 | B | Pascolo | 16,30 | 91,56 | 13,76 | 14,80 | 30,17 | 24,08 | 5,50 |
| | 24/11/2010 | A | Fieno | | 87,01 | 9,25 | 15,30 | 33,13 | 24,13 | 6,89 |
| | 24/11/2010 | A | Mangime | | 88,02 | 8,33 | 19,00 | 8,61 | 5,27 | 1,64 |
| | 24/11/2010 | A | Mangime | | 87,36 | 3,25 | 9,60 | 10,66 | 6,31 | 1,62 |
| | 30/11/2010 | D | Pascolo | 16,06 | 92,55 | 12,53 | 13,21 | 37,20 | 28,45 | 3,95 |
| | 30/11/2010 | C | Pascolo | 21,88 | 92,47 | 16,40 | 14,85 | 37,10 | 24,96 | 4,12 |
| | 30/11/2010 | A | Pascolo | 19,82 | 77,72 | 14,10 | 16,21 | 28,30 | 23,69 | 3,45 |
| | 30/11/2010 | B | Pascolo | 16,55 | 91,14 | 16,10 | 13,89 | 27,20 | 21,54 | 3,65 |
| | 09/12/2010 | D | Pascolo | 19,50 | 93,91 | 20,50 | 14,02 | 34,81 | 22,26 | 4,50 |
| 09/12/2010 | A | Pascolo | 19,41 | 94,05 | 19,80 | 15,25 | 29,39 | 25,41 | 6,11 | |
| 09/12/2010 | B | Pascolo | 22,26 | 93,83 | 19,10 | 14,73 | 31,64 | 24,56 | 3,45 | |
| 09/12/2010 | C | Pascolo | 21,18 | 94,51 | 23,50 | 12,85 | 32,65 | 27,84 | 4,51 | |

¹Analisi riferite sulla S.S.a 103°C (da calcolo).

- Sostanza secca (S.S.) utilizzando il metodo con essiccazione a +60°C. (Metodo Ufficiale AOAC 965.16)
- Sostanza secca (S.S:) utilizzando il metodo con essiccazione a +103°C. (ISO 6496:1999);
- Ceneri (Metodo Ufficiale AOAC 950.02);
- Proteina grezza, metodo Kjeldahl (EN ISO 5983-2:2009)
- Fibra insolubile in detergente neutro (NDF). (Metodo Ufficiale AOAC 950.02), (Van Soest P.J., Robertson J.B. ,1985), (Van Soest P.J.; Robertson J.B.,Lewis B.A. ,1991), determinata con un Fibertec™ della Foss (Danimarca);
- Fibra insolubile in detergente acido (ADF). (Metodo Ufficiale AOAC 950.02);
- Lignina (ADL) con permanganato di potassio. (Metodo Ufficiale AOAC 950.02).

5.4.2. TRATTAMENTO DEI DATI E ANALISI STATISTICA

I livelli di intake del pascolo e le varie integrazioni in stalla sono stati calcolati sulla base di analisi chimiche, sulla produzione di latte e sulla composizione chimica del latte, utilizzando il CPM Dairy ® 3.0.10. (Fig.2) Dairy Cattle Ration Analyzer e il CPM Dairy ® 2.4 Statistical Analysis (Cornell Penn Miner; Boston, R. 2000).

Differenze nella composizione botanica e chimica dei pascoli in primavera e in autunno così come le differenze nell'intake di pascolo durante la primavera e l'autunno, sono stati rilevati utilizzando un modello lineare per il periodo di sperimentazione considerato e per azienda agricola come variabili indipendenti. Le differenze sono state considerate significative quando $P < 0,05$.

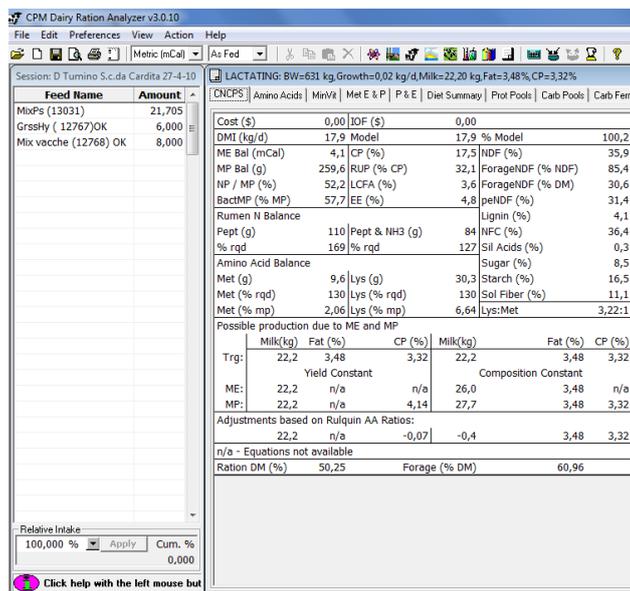


Figura 2. Schermata riassuntiva di una razione elaborata al CPM Dairy ® 3.0.10

5.5. ANALISI DEI COMPOSTI VOLATILI E DELLE COMPONENTI PRINCIPALI (PCA) ALLO SMART NOSE

5.5.1. SMART NOSE

Lo Smart Nose è un naso elettronico basato sulla Spettrometria di Massa, che permette l'analisi diretta dei composti organici volatili dello spazio di testa di campioni liquidi o solidi.

Lo Smart Nose è costituito dalle seguenti parti (Foto 7) un autocampionatore (CTC Combi Pal con Cycle Composer software), provvisto di travi porta-vial e fornetto, uno spettrometro di massa (MS) a quadrupolo ad alta sensibilità (Inficon AG) con uno range di ioni di massa misurabili da 1 a 200 amu ed un software di analisi statistica multivariata (SMart Nose 1.51) per l'acquisizione dei dati.

L'autocampionatore dello Smart Nose è totalmente programmabile e può contenere 2 x 32 vial da 10 o 20 ml. Per generare lo spazio di testa necessario, ciascun campione è riscaldato nel fornetto, che può raggiungere la temperatura

massima di 200°C. La siringa pre-riscaldata inietta fino a 2.5 ml dello spazio di testa del campione dentro l'iniettore dello MS. La siringa e l'iniettore sono puliti con flusso di azoto dopo l'analisi di ogni campione.



Foto 7. Smart Nose

Le intensità degli ioni che provengono dai differenti canali di massa sono conservati in un database e vengono registrate sottoforma di matrice. Il principio di analisi dello SMART Nose consiste nel paragonare gli spettri di massa della frazione volatile (spazio di testa) di tutti i campioni. Le sostanze però non sono separate, ma analizzate globalmente. L'identificazione dei vari campioni si basa sulle differenze, a volte piccole, tra gli spettri che costituiscono l'impronta digitale di ogni campione. I dati vengono trattati statisticamente secondo il metodo di analisi multivariata PCA (Principal Components Analysis) per ottenere alla fine un grafico bidimensionale dei campioni discriminati (Graf. 4).

Affinché il confronto tra i campioni sia reale è importante mantenere uguali per ogni campione le condizioni sperimentali, quali pesata, superficie e granulometria del campione, temperatura e tempo di incubazione e parametri come agitazione e tempo di acquisizione.

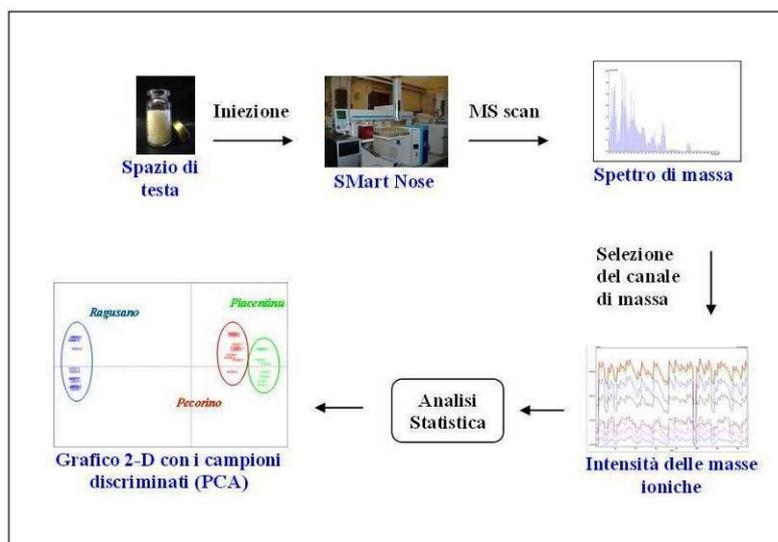


Grafico 4. Esempio su principio di analisi dello SMart Nose

5.5.2. ANALISI ALLO SMART NOSE

Aliquote di 4 ml di latte sono state poste all'interno di vial da 10mL chiuse con tappo ermetico provvisto di setto silicone-PTFE . Per ciascun campione sono state effettuate tre repliche, è stato collocato sull'autocampionatore in maniera random per distorsioni dovuti a fattori esterni; sono stati analizzati come riferimento anche dei campioni di aria.

Le vials sono state incubate per 30 min a 60 °C sotto agitazione. I composti volatili sono stati estratti mediante una siringa e iniettati all'interno dello MS a quadrupolo senza separazione gascromatografica.

Sotto elencate si trovano le principali condizioni operative:

- Temperatura di iniezione: 160°C;
- Temperature della siringa: 100 °C;
- Volume di iniezione: 2.5 ml;
- Flusso di purge: 200ml/min (azoto come gas di spurgo);
- Modalità di Ionizzazione Elettronica (EI): 70 eV;

- m/z range (intervallo di massa): 10-160 amu;
- SEM voltage: 1160 V;
- Tempo totale di acquisizione fissato a 170 s (in modo che sono stati misurati tre cicli per ogni iniezione);
- Tempo di purge tra i campioni: 20 s;
- Tempo di purge dopo l'analisi: 15 min.

5.5.3. TRATTAMENTO DEI DATI E ANALISI STATISTICHE

Tutti i set di dati sono stati trasformati utilizzando il software in dotazione con lo SMart Nose® 1.51 (da LDZ, CH-2074 Marin-Epagnier).

Inizialmente è stato calcolato il valore medio dei tre cicli registrati e, in seguito, i dati processati sono stati normalizzati in funzione dello ione dell'argon ($m/z = 40$) dell'aria. Tale rapporto massa su carica non è soggetto praticamente a nessun tipo di contaminazione da parte di altri composti e la concentrazione di questo gas nello spazio di testa può essere considerata costante.

Infine è stato effettuato il calcolo della PCA, in base agli ioni più discriminanti. L'analisi statistica dei dati è stata effettuata per determinare similitudini/ differenze tra i campioni di latte ottenuto nei diversi periodi, tra le diverse razze e le diverse dell'esperimento.

5.6. DETERMINAZIONE NEL LATTE DI β -CAROTENE E VITAMINA E

Sia l'estrazione di β -carotene che α -tocoferolo è stata realizzata su latte fresco al buio per evitare la reazione ossidativa; sono stati analizzati solo i campioni prelevati in primavera e in estate.

Tale estrazione è stata realizzata seguendo la procedura di Palozza e Krinsky (1992) e Marino et al. (2010).

La concentrazione vitaminica è stata determinata usando una colonna a SB-C18 (5 μm particle size, 4.6 mm ID x 250mm, Agilent Zorbax). Il sistema di HPLC (Waters 2695) era dotato di un rilevatore di doppia Assorbanza (Waters 2487) impostato a 450 nm per tutte le operazioni di rilevamento del β -carotene, e con un rilevatore di λ (lambda) più fluorescenza (Waters 2475) utilizzando una eccitazione di 297 nm e una emissione di 340 nm per la rilevazione degli isomeri del tocoferolo.

5.6.1. TRATTAMENTO DEI DATI E ANALISI STATISTICHE

I risultati sono stati espressi come medie e deviazione standard. Ogni campione è stato analizzato in duplicato.

Per valutare le differenze riguardo il contenuto di vitamina E fra i campioni di latte è stata applicata l'analisi della Varianza utilizzando il software dedicato SigmaStat, versione 3.5. Il livello di significatività considerato è stato $*p < 0.05$.

6. RISULTATI E DISCUSSIONI

6.1. PASCOLO E INTAKE

La tabella 10 mostra la composizione botanica media del pascolo e la composizione chimica della sostanza secca media ingerita (%) in primavera e in autunno.

Sono state identificate più di 18 differenti famiglie botaniche nel pascolo primaverile e 13 nel pascolo autunnale. La famiglia delle Leguminosae è stata la famiglia più abbondante in primavera seguita dalle Compositae e dalla famiglia delle Graminaceae. Il pascolo autunnale è stato più ricco di Compositae seguito dalla famiglia delle leguminosae, dalla graminaceae e dalla famiglia delle Cruciferae. Il pascolo primaverile aveva una percentuale maggiore di leguminose rispetto al pascolo autunnale.

Il pascolo in primavera si presentava in uno stadio vegetativo più avanzato (da metà-fine fioritura alla fase di seme) rispetto al pascolo autunnale; quest'ultimo proveniva dal periodo estivo secco, con alcune piante che erano nelle prime fasi vegetative e a metà fioritura.

Il contenuto di umidità è risultato più alto nel pascolo autunnale rispetto al pascolo primaverile. I pascoli provenienti dalla 4 aziende sono risultati complessivamente simili ($p > 0,05$) per composizione chimica, ma botanicamente differivano tra le aziende stesse, con una diversa disponibilità di Leguminose, Graminacee e Crucifere, anche se i pascoli si trovavano vicini l'uno all'altro.

Tabella 11. composizione del pascolo e intake

| | Primavera | | Autunno | |
|------------------------------|--------------------|-----------------|-------------------|-----------------|
| | Media ¹ | SE ² | Media | SE ² |
| Piante famiglie/ specie (%) | | | | |
| Boraginaceae | 2.6 | | 1.7 | |
| Caryophyllaceae ³ | 0.3 | | 0.0 | |
| Chenopodiaceae ⁴ | 0.1 | | 1.7 | |
| Compositae | | | | |
| <i>Anthemis arvensis L.</i> | 5.8 | | 1.6 | |
| <i>Calendula arvensis L.</i> | 2.4 | | 7.1 | |
| <i>Chrysanthemum seg.</i> | 2.6 | | 12.9 | |
| other species | 11.0 | | 16.6 | |
| Cruciferae | 3.6 | | 7.8 | |
| Euphorbiaceae | 1.9 | | 4.0 | |
| Geraniaceae | 3.9 | | 3.5 | |
| Graminaceae | 9.7 | | 12.8 | |
| Labiatae | 0.3 | | 0.0 | |
| Leguminosae | 47.3 ^a | 3.5 | 24.9 ^b | 3.5 |
| Liliaceae | 1.4 | | 0.0 | |
| Malvaceae | 1.6 | | 3.3 | |
| Oxalidaceae | 0.0 | | 0.8 | |
| Plantaginaceae ⁵ | 1.2 | | 0.8 | |
| Polygonaceae ⁶ | 0.2 | | 0.0 | |
| Primulaceae ⁷ | 0.4 | | 0.0 | |
| Ranunculaceae ⁸ | 0.5 | | 0.5 | |
| Resedaceae | 0.3 | | 0.0 | |
| Umbelliferae | 2.9 | | 0.3 | |

¹Le medie della percentuale delle famiglie botaniche di Leguminosae nei pascoli, sono Scarti Quadratici Medi, il resto dei valori sono medie.

²Errore standard.

³Principalmente *Silene colorata*

⁴Principalmente *Beta vulgaris*

⁵Principalmente *Plantago cupani*

⁶Principalmente *Rumex thyrsoides*

⁷Principalmente *Anagallis arvensis*

⁸Principalmente *Adonis annua*

^{a-b}Le medie con apici differenti sono statisticamente significativi ($P < 0.05$).

Tabella 12. Composizione chimica del pascolo e intake

| Composizione chimica Pascolo | Primavera | | Autunno | |
|------------------------------|--------------------|-----------------|--------------------|-----------------|
| | Media ¹ | SE ² | Media ¹ | SE ² |
| DM ³ (%) | 22.8 ^a | 0.9 | 17.1 ^b | 0.9 |
| CP ⁴ (%DM) | 18.0 | 0.7 | 16.4 | 0.7 |
| NDF ⁵ (%DM) | 37.7 | 1.7 | 33.8 | 1.7 |
| Intake Pascolo (% DM) | 37.5 ^a | 0.05 | 27.3 ^b | 0.05 |

¹Le medie della percentuale delle famiglie botaniche di Leguminosae nei pascoli, la composizione chimica del pascolo e l'intake sono Scarti Quadratici Medi, il resto dei valori sono medie.

²Errore standard.

³Sostanza secca

⁴Proteina grezza

⁵Fibra neutro detersa

^{a-b}Le medie con apici differenti sono statisticamente significativi ($P < 0.05$).

Le bovine in tutte e 4 le aziende hanno avuto un maggior intake di pascolo in primavera rispetto all'autunno. Le bovine di razza Bruna e quelle di razza Frisona appartenenti alla stessa, presentavano lo stesso management e lo stesso regime alimentare. Le bovine di razza Modicana presenti nelle due aziende hanno presentato un elevato intake di pascolo in tutte e due le aziende.

6.2. β -CAROTENE E VITAMINA E

Confrontando i risultati ottenuti dall'analisi dei campioni di latte prelevati nei due periodi sperimentali si osserva che l'alimentazione al pascolo, in accordo con quanto sostenuto da altri autori (Butler et al 2008; Calderon et al 2007), ha una significativa influenza sul contenuto degli antiossidanti nel latte a prescindere la razza della vacca considerata. Questi risultati sottolineano l'importanza di foraggio

fresco sul contenuto vitaminico nel latte. I foraggi freschi nella dieta sono in grado di accrescere la concentrazione vitaminica del latte rispetto a dieta a base di concentrati e di foraggi conservati, che subiscono perdite sostanziali in vitamine (30% a 80%) quando sono tagliate, essiccate, lavorate e conservate (Nozière et al. 2006). In particolare, nel grafico 5 le barre rappresentano per ogni razza la media e deviazione standard dei risultati per il beta (β) carotene ottenuti da 4 prelievi di latte effettuati nel periodo primaverile e nel periodo estivo. Ogni campione di latte è stato analizzato in doppio.

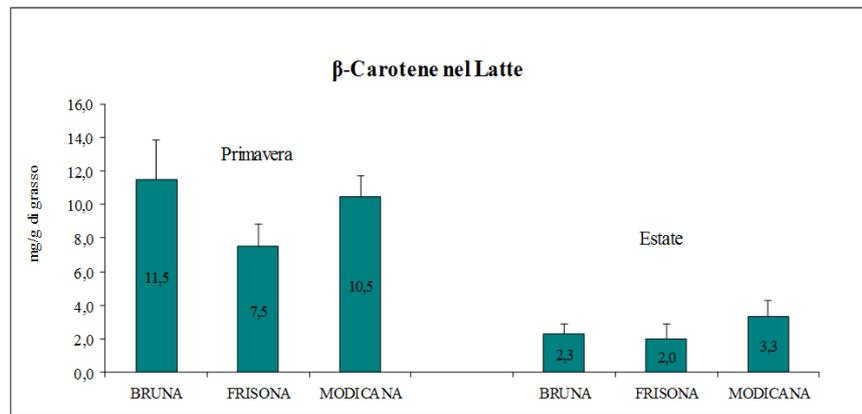


Grafico 5. Risultati per il β -carotene nei 4 prelievi di latte effettuati nel periodo primaverile e nel periodo estivo.

Nel grafico 6 le barre rappresentano per ogni razza la media e deviazione standard dei risultati per l'alfa (α) tocoferolo ottenuti da 4 prelievi di latte effettuati nel periodo primaverile e nel periodo estivo. Ogni campione di latte è stato analizzato in doppio.

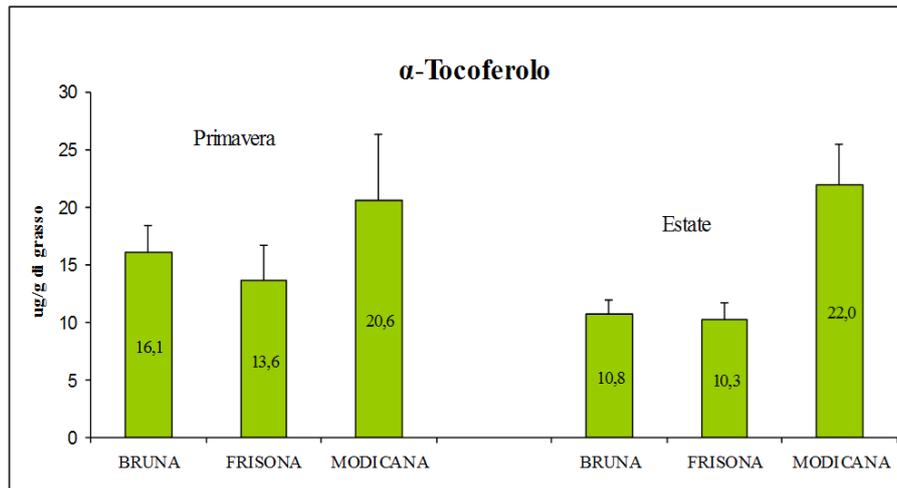


Grafico 6. Risultati per l'alfa tocoferolo ottenuti da 4 prelievi di latte effettuati nel periodo primaverile e nel periodo estivo.

Un effetto pascolo si è visto in particolare per il β -carotene. Un aumento significativo del 70-80% è stato riscontrato per il beta carotene in tutti i campioni di latte prelevati nel periodo del pascolo rispetto a quelli prelevati nel periodo in cui il pascolo è scarso. Se consideriamo le singole razze nel periodo del pascolo, i latti provenienti dalla Bruna sono quelli che hanno raggiunto picchi più alti (range 8.0-15.0 $\mu\text{g/g}$ di grasso totale), secondi la Modicana (8.6-11.8 $\mu\text{g/g}$ di grasso totale) e significativamente più bassi la Frisona (6.3-9.9 $\mu\text{g/g}$ di grasso totale). In estate i valori bassi del β -carotene diventano quasi indistinguibili per i latti di tutte le razze con un range sovrapponibile per Bruna e Frisona (1.1-3.5 $\mu\text{g/g}$ di grasso totale) mentre, si hanno valori leggermente più alti nel latte della Modicana (2.3-4.2 $\mu\text{g/g}$ di grasso totale). Se confrontiamo i latti di razza uguale proveniente da aziende diverse c'è una differenza significativa ($p < 0.031$) per la Bruna, per la Frisona ($p < 0.023$), per la Modicana ($p < 0.003$). Questi risultati confermano l'importanza del management aziendale, della locazione dell'azienda e quindi della varietà di essenze presenti nel pascolo che determinano il contenuto di beta carotene nel latte. Tuttavia un effetto razza sul contenuto di beta carotene si osserva quando c'è disponibilità di pascolo soprattutto tra Bruna e Frisona. Per la stessa azienda il latte di Bruna ha sempre valori significativamente più alti rispetto alla Frisona (rispettivamente 0.477 vs 0.297 mg/L per l'azienda 1 e 0.348 vs 0.229 mg/L per

l'azienda 2). Questo può essere spiegato probabilmente con la capacità delle due razze di metabolizzare diversamente questa vitamina o con le diverse abitudini alimentari (preferenza di una pianta ad un'altra).

Inoltre, per i valori di β -carotene riscontrati in estate, Nozière et al.(2006) e Marino et al.(2010) hanno dimostrato che quando assunte in eccesso le vitamine liposolubili, esse vengono conservate per lunghi periodi nei tessuti del corpo degli animali. Così, quando l'offerta alimentare di vitamine si riduce, il tessuto adiposo rilascia vitamine, anche se lentamente, indipendentemente dalla mobilitazione dei lipidi (Dunne et al. 2008).

Riguardo l' α -tocoferolo si può osservare un lieve incremento dell'ordine del 20-30% , nel latte della Frisona e della Bruna alimentate al pascolo. Un effetto razza si osserva anche per Frisona e Bruna ($p < 0.04$). Interessanti sono invece i risultati per la Modicana che durante il periodo del pascolo riesce a raggiungere valori di alfa tocoferolo elevati compresi fra 13.4 e 28.0 $\mu\text{g/g}$ di grasso totale rispetto alla Frisona (7.8-18.5 $\mu\text{g/g}$ di grasso totale) e alla Bruna (12.6-18.6 $\mu\text{g/g}$ di grasso totale). Il dato più interessante è che la Modicana riesce a mantenere questi valori elevati anche in estate. Questo potrebbe essere spiegato col fatto che la Modicana è una razza autoctona quindi meglio adattata all'ambiente.

Si è notato soprattutto un significativo effetto pascolo con uno scarso effetto della razza sul contenuto di β -carotene nel latte a conferma di quanto riportato da Nozière in una review (2006). Per la vitamina E la razza Modicana si è distinta dalle altre non solo per l'elevato contenuto di questa vitamina nel latte con un valore max di 1,2 mg/L (valore che ho riscontrato solo nel latte di pecora) ma anche perché lo ha mantenuto in assenza di pascolo. Una eventuale spiegazione potrebbe derivare dalla capacità della vacca Modicana di fare grande riserva di alfa tocoferolo nei tessuti di deposito del grasso (tessuto adiposo, fegato) nei momenti di grande apporto (pascolo) per rilasciarlo nel latte nei momenti in cui questo viene a mancare.

6.3. COMPONENTI VOLATILI

Lo SMart Nose è molto sensibile nella rilevazione delle componenti volatili dei campioni. Questo strumento è stato usato nello screening rapido per analizzare l'aroma dei batteri produttori di acido lattico (Marilley et al. 2004), per verificare l'effetto delle tecnologie lattiero-caseari tradizionali e industriali (Carpino et al. 2008, 2010), per verificare le sub-varietà (Jou et al. 1998), per studiare l'area geografica della produzione (Pillonel et al. 2003b, Belvedere et al. 2010), per analizzare la stagione di produzione (O'Riordan & Delahunty 2003a) e il tempo di maturazione (Drake et al. 2003) dei formaggi. Differenze riscontrate potrebbero non corrispondere a differenze di aroma, perché le percezioni di gusto e aroma sono influenzate da livelli minimi di composti con odore e sapore attivo, mentre lo Smart Nose valuta tutti i composti a tutte le concentrazioni. Tuttavia, le analisi allo Smart Nose sono delle analisi preliminari, perché solo quando tale strumento rileva le differenze, allora ci sono ottime probabilità che esistono differenze anche nei profili di gusto e odore.

I grafici 7 e 8 mostrano differenze nei profili aromatici del latte prelevato in primavera, in estate e in autunno.

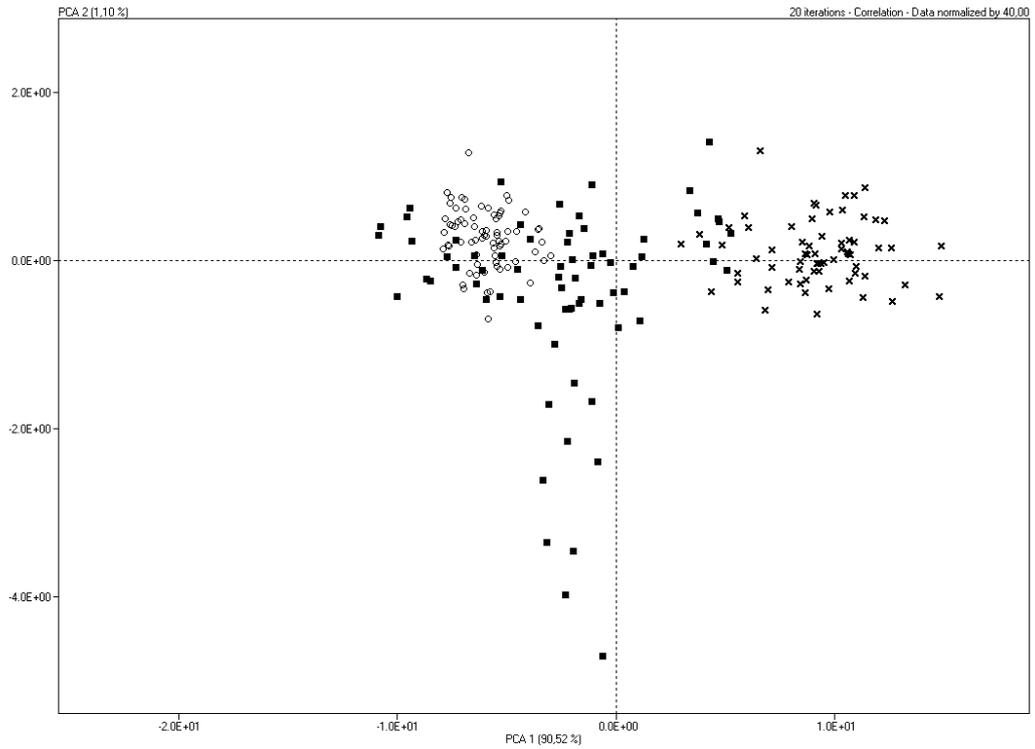


Grafico 7. Campioni di latte, analisi della PCA. Analisi dei profili aromatici in primavera, estate e in autunno (■ primavera; × estate, ○ autunno)

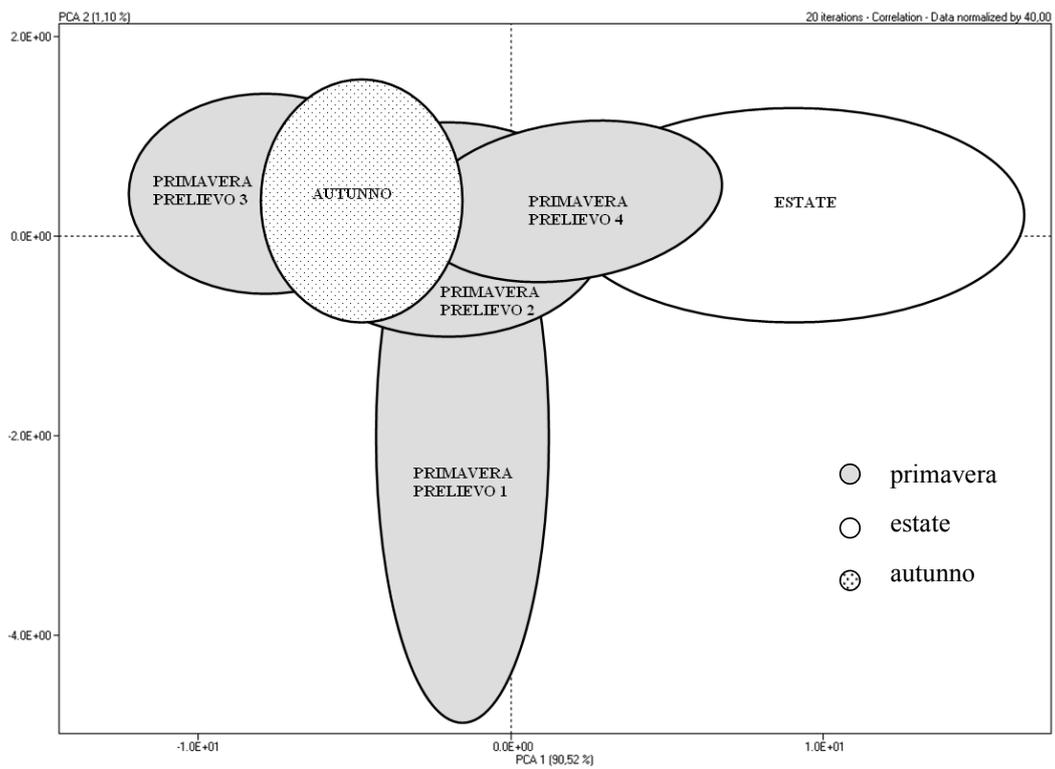


Grafico 8. PCA analisi per i campioni di latte di primavera, estate e autunno

Il profilo delle componenti volatili si è rilevato diverso nel latte prelevato nella stagione estiva rispetto a quello prelevato in primavera e in autunno.

Queste differenze possono essere spiegate dalla differente tipologia di alimentazione delle vacche. Durante l'autunno e la primavera una larga parte della dieta bovina è costituita dal pascolo (37.5% e 27.3% sostanza secca, rispettivamente). In estate le bovine sono alimentate in stalla con fieno e concentrati. Carpino et al. (2004) ha riscontrato differenze nei profili odorosi del Ragusano DOP, quando questo è prodotto da latte di vacche alimentate al pascolo e quando è invece prodotto da vacche alimentate con UNIFEED. Le essenze foraggere spontanee, disponibili per l'animale, possono fortemente influenzare le proporzioni e le quantità di monoterpeni e di sesquiterpeni nel grasso del latte, e come conseguenza, possono determinare la formazione di flavour nel latte e dei prodotti da esso ottenuti (Mariaca et al. 1997; Buchin et al. 1999, Viallon et al. 2000, Coulon et al. 2000). L'intake di pascolo in autunno è stato leggermente inferiore rispetto a quello primaverile. I foraggi in primavera erano generalmente ad uno stadio biologico più avanzato (metà-fine fioritura alla formazione del seme) rispetto alle piante che crescevano in autunno, subito dopo il periodo estivo secco (inizio vegetativo a inizio-metà fioritura) inoltre, il contenuto di umidità era più bassa in primavera rispetto all'autunno (77% e 83% rispettivamente). Secondo Carpino et al. (2001) le singole specie vegetali non necessariamente sono presenti durante tutto l'intero periodo dell'anno e, pertanto, la composizione botanica del pascolo può cambiare. *Diplotaxis eruroides* e *Sinapis arvensis*, per esempio, appartengono entrambi alla famiglia delle Cruciferae. Il pascolo Ibleo. È costituito da *Diplotaxis eruroides* soprattutto in autunno, mentre *Sinapis arvensis* è molto presente nei pascoli primaverili. *Anthemis arvensis* e *Calendula arvensis* appartengono alla famiglia delle Compositae. In Sicilia, *Calendula arvensis* cresce relativamente presto rispetto ad *Anthemis arvensis*. Tuttavia, nonostante le singole essenze foraggere considerate siano più o meno presenti durante il periodo in cui è disponibile il pascolo, la composizione delle componenti volatili del latte primaverile e autunnale è stata simile. La motivazione principale a questo fenomeno potrebbe essere dovuta al fatto che la differenza tra l'intake di pascolo e

le essenze foraggere consumate degli animali, erano troppo poche per indurre cambiamenti importanti nella composizione del latte in termini concentrazione di composti volatili. Rispetto al latte autunnale, il latte primaverile ha mostrato un profilo di composti volatili più eterogeneo. Durante i prelievi primaverili, le componenti volatili cambiava frequentemente, (Graf.8), questo può essere dovuto al progredire dello stadio vegetativo delle essenze foraggere capaci di influenzare l'aroma del latte. Infatti, si è potuto osservare una sostanziale differenza tra il primo e il terzo prelievo di latte primaverile. Inoltre i prelievi di latte primaverili mostrano un profilo aromatico differente rispetto a quello del latte prelevato in estate. Al quarto giorno di campionamento (primavera), i latti prodotti dalla Frisona e dalla Bruna avevano una composizione di composti volatili non diversi dal latte prodotto in estate. In quel periodo, lo stadio vegetativo era molto avanzato e il pascolo era quasi secco e simile alle stoppie. Le componenti aromatiche del latte autunnale sono state molto simili a quelle riscontrate dall'analisi dei campioni del 3° prelievo primaverile (Graf.8). Infatti, lo stadio vegetativo autunnale e la fase di maturazione dei semi (3° campionamento), in primavera, può influenzare allo stesso modo la composizione delle componenti volatili del latte. Il grafico 9 mostra le differenze nella composizione delle componenti volatili del latte tra Frisona, Bruna e Modicana.

Il latte di vacca Modicana differiva da latte di frisona e di bruna, mentre il latte di Frisona e di Bruna è risultato simile.

Frisona e Bruna appartenevano alla stessa azienda e presentano simile management e come conseguenza, avevano un'alimentazione simile. Le bovine di razza Modicana appartenevano a due differenti aziende e avevano differenti supplementi alimentari e diversi tempi di alimentazione. L'intake medio di sostanza secca durante la primavera e l'autunno, per le bovine di razza Modicana è stato rispettivamente di 69,0 e 55,3%, mentre l'apporto di sostanza secca per le bovine di razza bruna e frisona è stato rispettivamente di 21,8 e 16,5% (Tab.13).

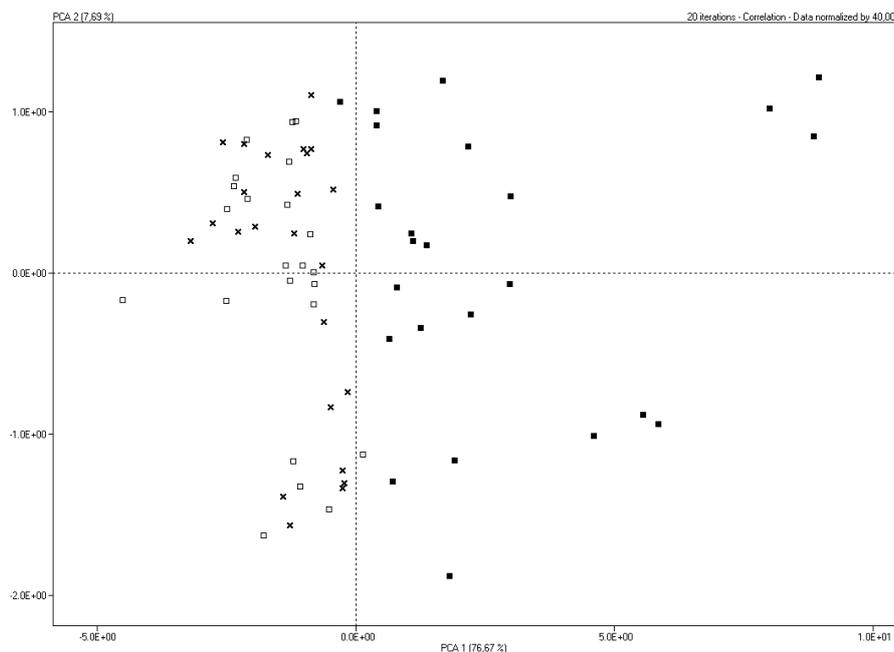


Grafico 9. Analisi delle PCA - Differenze nella composizione delle componenti volatili del latte tra frisona, bruna (□ Frisona, × Bruna, ■ Modicana)

Tabella 13. Intake di pascolo per razza nei vari periodi

| Razza | Periodo dell'esperimento | | |
|----------|--------------------------|--------|-------------------|
| | Primavera | Estate | Autunno |
| Modicana | 69.0 ¹ | 0 | 55.3 ¹ |
| Bruna | 21.8 ² | 0 | 16.5 ² |
| Frisona | 21.8 ³ | 0 | 16.5 ³ |

¹Media fra le 2 aziende di Modicana presenti nel progetto

²⁻³Media fra le 2 aziende miste presenti nel progetto

Anche se le aziende agricole sono state scelte nella stessa area geografica così da evitare differenze per quanto riguarda la composizione botanica del pascolo, potrebbero esserci state delle variazioni tra le diverse aziende. I composti volatili sono probabilmente più legato alla parte grassa del latte. Il latte di modicana aveva un più elevato contenuto di grassi ($4\% \pm 0.1$) rispetto al latte di Frisona e di Bruna ($3,6 \pm 0,1\%$) e questa differenza può essere attribuita in parte a un effetto di razza,

come riportato da Cerbulis e Farrel (1975). Tuttavia, le differenze in termini di composti volatili del latte non possono essere attribuite esclusivamente alla razza, ma anche alla diversa qualità del pascolo e soprattutto all'intake di pascolo che è di gran lunga superiore per le bovine di razza Modicana rispetto alle bovine di razza Bruna e Frisona, questi possono essere state le variabili in grado di influenzare la composizione delle componenti volatili del latte.

7. CONCLUSIONI

Nel presente studio, il regime alimentare ha influenzato le componenti aromatiche del latte. Il latte prodotto dalle bovine alimentate al pascolo, ha mostrato una diversa composizione in termini di composti volatili, rispetto al latte prodotto da bovine alimentate in stalla, con concentrati e foraggi affienati. Anche lo stadio vegetativo delle essenze foraggere può influenzare le componenti aromatiche del latte: durante l'autunno, i composti volatili individuati, sono stati più omogenei rispetto a quelli rilevati in primavera; dalle analisi, infatti, si è evidenziato come i composti volatili, del latte primaverile, sono cambiati rapidamente nel corso dei vari prelievi.

La concentrazione dei composti volatili del latte di vacca Modicana, è stata diversa dalla composizione dei composti volatili del latte di Bruna e Frisona. Tuttavia, le differenze non possono essere esclusivamente attribuite ad un effetto razza, ma potrebbe essere anche spiegata dal diverso intake delle bovine nelle diverse aziende.

Inoltre, nel presente lavoro, gli alti livelli di β -carotene e di α -tocoferolo in primavera, rispetto all'estate (quando il pascolo non era disponibile), sono in accordo con quanto sostenuto da altri autori (Butler et al 2008; Calderon et al 2007): questi sottolineano l'importanza del pascolo nella dieta di bovine in lattazione, sul contenuto vitaminico nel latte.

I foraggi freschi sono in grado di accrescere la concentrazione vitaminica del latte rispetto a diete a base di concentrati e di foraggi conservati, i quali subiscono perdite sostanziali in vitamine (dal 30 % a all'80 %) quando sono sottoposti a processi di fienaggione, lavorazione (es. erba medica disidratata) e conservazione (Nozière et al. 2006).

Inoltre, il contenuto in vitamine più basso in estate rispetto alla primavera, è stato coerente con i risultati trovati da altri autori nel latte di vacche alimentate sia a base di concentrati che di foraggi secchi (Martin et al 2002; Agabriel et al 2007, Nozière et al 2006).

Si è visto, inoltre, che il contenuto vitaminico è correlato all'elevata presenza di leguminosae nel pascolo, ciò è in accordo con alcuni autori che hanno dimostrato come la presenza di questa famiglia botanica nella dieta delle vacche, aumenta la concentrazione, nel latte, di sostanze bioattive come le vitamine (Bolstad et al 2007;. Danielsson et al 2008); Shroeder et al. (1996) hanno dimostrato che le Leguminosae rispetto alle Graminaceae in fase avanzata di maturazione, contengono più caroteni, probabilmente per la più alta percentuale di foglie.

In primavera, l'intensità luminosa stimola la sintesi dei carotenoidi che agiscono nei cloroplasti delle foglie come pigmento accessorio fotosintetico per aumentare l'efficienza della clorofilla nella raccolta di energia luminosa (Albrecht et al. 1994); inoltre, in questa stagione il miglioramento delle condizioni climatiche promuove la conversione attiva di cloroplasti a cromoplasti, la principale sintesi e la conservazione dei carotenoidi nella frutta e nei fiori (Ljubešić et al. 1991).

Il conclusione, lo studio ha anche mostrato gli effetti delle stagioni e della razza sul contenuto vitaminico. Dai risultati si evince che la razza può influenzare il contenuto in β -carotene e in vitamina E nel latte, ad esempio all'interno della stessa azienda si sono riscontrate differenze vitaminiche nel latte di vacche di razza Bruna e di razza Frisona; Nozière et al. (2006) ha dimostrato che quando assunte in eccesso le vitamine liposolubili, vengono conservate per lunghi periodi nei tessuti del corpo dell'animale: infatti, in estate, il livello superiore del contenuto in vitamine nel latte di Modicana potrebbe essere spiegato anche da un maggior intake di pascolo, che gli ha permesso di accumulare nei propri tessuti elevate quantità in vitamine che si sono, poi, trasferite nel latte in un secondo tempo.

BIBLIOGRAFIA

1. Abu-Ghazaleh, A.A., D.J. Schingoethe, e A.R. Hippen. 2001. Conjugated linoleic acid and other beneficial fatty acids in milk fat from cows fed soybean meal, fish meal, or both. *J. Dairy Sci.* 84, 1845-1850.
2. Alais, C. 2000. *Scienza del latte, Tecniche Nuove (Ed.)*, Milano.
3. Ampuero S, Bosset JO (2003) The electronic nose applied to dairy products: a review. *Sens Actuators B* 94:1-12
4. Ando, M., K. Katagiri, S. Yamamoto, K. Wakamatsu, I. Kawahara, S. Asanuma, M. Usuda e K. Sasaki. 1997. Age related effects of heat stress on protective enzymes for peroxides and microsomal monooxygenase in rat liver. *Environ. Health Perspect.* 105, 727-733.
5. Antongiovanni, M., A. Buccioni, e M. Mele. Firenze, 6 marzo 2002. Strategie nutrizionali per il miglioramento della frazione lipidica degli alimenti di origine animale. *Atti Conv.* "Giornata di studio su: latte e carne dei ruminanti componente lipidica e salute umana".
6. AOAC Official Method 925.20, Collection of Milk Sample, Procedure.
7. AOAC Official Method 925.21, Preparation of Milk Sample, Procedure.
8. AOAC Official Method 978.26, Somatic cells in milk, optical somatic cell counting method (Fossomatic).
9. Arnold, G.J., e M.L. Dudzinsky. 1967. Studies on the diet of the grazing animal. II. The effect of physiological status in ewes and pasture availability on herbage intake. *Aust. J. Agric. Res.* 18, 349-359.
10. Ashes, J.R., S.K. Gulati, L.J. Cook, T.W. Scott, e J.B. Donnelly. 1979. Assessing the biological effectiveness of protected lipid supplements for ruminants. *JAOCs.* 56, 522-527
11. Balch, W.L., P. Borgeat e F.A. Fitzpatrick. 1991. The eicosanoid: cyclooxygenase, lipoxygenase, and epoxygenase pathway In: *Biochemistry of Lipids, Lipoproteins and Membranes*. Elsevier, Amsterdam, 297-325.

12. Baldi, A., G. Savoini, L. Pinotti, E. Monfardini, F. Cheli, e V. Dell'Orto. 2000. Effects of vitamin E and different energy sources on vitamin E status, milk quality and reproduction in transition cows. *J. Vet. Med.* A47: 599-608.
13. Ballarini, G. 1998. Elogio del burro. *Latte* 23, 103-106.
14. Ballarini, G. 2000. Latte ed alimentazione evoluzionistica. *La Selezione Vet.* 4, 231-257.
15. Banni S., E. Angioni, V. Casu, M.P. Melis, G. Carta, F.P. Corongiu, H. Thompson e C. Ip. 1999. Decrease in linoleic acid metabolites as a potential mechanism in cancer risk reduction by conjugated linoleic acid. *Carcinogenesis*, 20 (6), 1019-1024.
16. Banni, S., E. Angioni, G. Carta, V. Casu, M. Deiana, e M.A. Dessì. 1999. Influence of dietary conjugated linoleic acid on lipid metabolism in relation of its anticarcinogenic activity, in: *Advances in conjugated linoleic acid research*. Vol.1, *AOCS Press (Ed.)*, Champaign IL, pp. 307-18.
17. Bastasin, P., e L. Ceresa. 1997. *Industrie agroalimentari*. Franco Lucisano Editore.
18. Bauman, D.E., A.L. Lock, B.A. Corl, C. Ip, A.M. Salter, e P.W. Parodi. 2006. In: *Ruminant physiology*. Sejrsen K., Hvelplund T., Nielsen MO (ed.). Wageningen Academic Publishers, pp. 529-551.
19. Belvedere G, Rapisarda T, Carpino S (2011) Caratterizzazione del formaggio Pecorino Siciliano attraverso l'area di produzione. *Sci Tecn Latt -Cas* 62 (1):45-50
20. Bendich, A. 1993. Physiological role of antioxidants in the immune system. *J. Dairy Sci.* 76, 2789-2794.
21. Bertoni, G., e L. Calamari 1995. Uso corretto dell'alimentazione per una corretta caseificazione del Latte. *Sci. Tecn. Latt. Cas.* 46 (5), 325-333.
22. Beutner, S., B. Bloedorn, S. Frixel, I. Hernández Blanco, T. Hoffmann, H.-D. Martin, B.Mayer, P. Noack, C. Ruck, M. Schmidt, I. Schülke, S. Sell, H. Ernst, S. Haremza, G.Seybold, H. Sies, W. Stahl, e R. Walsh. 2001. Quantitative

- assessment of antioxidant properties of natural colorants and phytochemicals: carotenoids, flavinoids, phenols and indigoids. The role of β -carotene in antioxidant functions. *J. Sci. Food Agric.* 81, 559-568.
23. Bittante, G., I. Andrighetto, e M. Ramanzin. 1987. *Tecniche di Produzione Animale*. Liviana Editrice.
 24. Bittante, G., I. Andrighetto, e M. Ramanzin. 1990. *Fondamenti Di Zootecnica*. Liviana Editrice.
 25. Borel, P., J. Draï, H. Faure, V. Fayol, C. Galabert, M. Laromiguiere, e G. Le Moel. 2005. Recent knowledge about intestinal absorption and cleavage of carotenoids. *Ann. Biol. Clin. (Paris)* 63, 165–177.
 26. Briard, V., N. Leconte, F. Michel, e M.C. Michalski. 2003. The fatty acid composition of small and large naturally occurring milk fat globules. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.* 105, 677-682.
 27. Brunelli, E. 2008. Le proteine del latte. *Il Latte* 10, 78-80.
 28. Buccioni, A., F. Petacchi, e M. Antongiovanni. Firenze, 6 marzo 2002. Attività ruminali e presenza di acidi grassi *trans* e di CLA nei lipidi del latte e della carne. Atti Conv. “Giornata di studio su: latte e carne dei ruminanti componente lipidica e salute umana”.
 29. Buchin S, Martin B, Dupont D, Bornard A, Achilleos C (1999) Influence of the composition of alpine highland pasture on the chemical and sensory properties of cheese. *J Dairy Res* 66:579-588
 30. Caboni, M.F., G. Lercker, e G. Losi. 1983. Composizione del grasso del latte: nota II determinazione dei fosfolipidi. *Sci. Tecn. Latt. Cas.* 34, 7-19.
 31. Campo, P., G. Licitra, R., Gelsomino, L. Corallo, S. Carpino, e D.M. Barbano. 1998. Composition Of Milk From Modicana And Other Breeds Of Dairy Cattle In Sicily. *Milchwissenschaft* 54, 8.
 32. Carpino S, Campisi G, Schadt I., Gambina M, Benvisto M, Melilli C, Licitra G, Van Soest PJ (2001) Composizione floristica e simulazione di pascolamento in diverse annate foraggere. I pascoli naturali. Cap. 1: 11-55.

33. Carpino, S., S. Mallia, S. La Terra, C. Melilli, G. Licitra, T. E. Acree, D. M. Barbano, e P. J. Van Soest. 2004. Composition and Aroma Compounds of Ragusano Cheese: Native Pasture and Total Mixed Rations. *J. Dairy Sci.* 87, 816–830.
34. Carpino S, Rapisarda T, Belvedere G, Licitra G (2008) Volatile fingerprint of Piacentinu cheese produced with different tools and type of saffron. *Small Ruminant Research* 79 (1):16-21
35. Carpino S, Rapisarda T, Belvedere G, Papademas P, Neocleous M, Scadt I, Pasta C, Licitra G (2010) Effect of dehydration by sun or by oven on volatiles and aroma compounds of Trachanas. *Sci Tecn Latt - Cas* 90 (6) :715-727
36. Carroll, S.M., E.J. DePeters, S.J. Taylor, M. Rosenberg, H. Perez-Monti, e V.A. Capps. 2006. Milk composition of Holstein, Jersey and Brown Swiss cows in response to increasing levels of dietary fat. *Anim. Feed Sci. Technol.* 131, 451-473.
37. Cave, W. T. 1991. Dietary n-3 polyunsaturated fatty acid effects on animal tumorigenesis. *FASEB J.* 5, 2160-2166.
38. Cerbulis J and Farrel HM (1975) Composition of Milks of Dairy Cattle. I. Protein, Lactose, and Fat Contents and Distribution of Protein Fraction. *J Dairy Sci* 58: 817-827
39. Chilliard, Y., A. Ferlay, R.M. Mansbridge, e M. Doreau. 2000. Ruminant milk fat plasticity: nutritional control of saturated, polyunsaturated, trans and conjugated fatty acids. *Ann. Zootech.* 49, 181-205.
40. Chilliard, Y., J. Rouel, e C. Leroux. 2006. Goat's alpha-s1 casein genotype influences its milk fatty acid composition and delta-9 desaturation ratios. *Anim. Feed Sci. Technol.* 131, 474-487.
41. Cocchi, M., e G. Tarozzi. 2005. Acidi grassi aspetti fisiopatologici in “Alimenti e salute”. A cura di M. Cocchi e A.L. Mordenti. CLUEB Bologna, 315-337.
42. Collomb, M., U. Bütikofer, R. Sieber, B. Jeangros, e J.O. Bosset. 2002. Composition of fatty acids in cow's milk fat produced in the lowlands,

- mountains and highlands of Switzerland using high-resolution gas chromatography. *Int. Dairy J.* 12, 649-659.
43. Collomb, M.B, U. Utikofer, R. Sieber, B. Jeangros, e J.O. Bosset. 2002. Correlation between fatty acids in cows' milk fat produced in the lowlands, mountains and highlands of Switzerland and botanical composition of the fodder. *International Dairy Journal* 12, 661-666.
44. Comba, G., L. Degano, P. Basiglio, e R. Arru. Fossano (CN) 1995. Programma di miglioramento dei formaggi a denominazione d'origine Bra e Raschera. Atti del Convegno Nazionale "Parliamo di ... produzione e trasformazione del latte", pp. 159-167.
45. Corradini C. 1995. *Chimica e tecnologia del latte. Tecniche nuove (Ed.)*, Milano.
46. Coulon JB, Martin B, Verdier-Metz I, Buchin S, Viallon C (2000) Etude du lien entre terroir et produit dans le cas des fromages AOC : influence de la composition floristique des fourrages sur les caractéristiques chimiques et sensorielles des fromages affinés. *Renc Rech Rum* 7:304-307
47. Coulon JB, Delacroix-Buchet A, Martin B (2004) Relationships between ruminant management and sensory properties of cheeses: A review. *Lait* 84:221–241
48. Couvreur, S., C. Hurtaud, C. Lpopez, L. Delaby, e J.L. Peyraud. 2006. The linear relationship between the proportion of fresh grass in the cow diet, milk fatty acid composition and butter properties. *J. Dairy Sci.* 89, 1956-1969.
49. Decisione della Commissione del 14.02.91 che stabilisce metodi di analisi e di prova relativi al latte crudo e al latte trattato termicamente (91/180/CEE)
50. D'urso, G.; E. Lanza; e G. Licitra. 1983. Studio sulle caratteristiche biometriche delle bovine di razza Modicana. *Tecnica Agricola*, n.1.
51. Danthine, S., B. Blecker, M. Paquot, N. Innocente, e C. Deroanne. 2000. Évolution des connaissances sur la membrane du globule gras du lait: synthèse bibliographique. *Lait* 80, 209-222.

52. Doreau, M., e A. Ferlay. 1994. Digestion and utilization of fatty acids by ruminant. *Anim. Feed Sci. Technol.* 45, 379-396.
53. Drake MA, Gerard PD, Kleinhenz JP, Harper WJ (2003) Application of an electronic nose to correlate with descriptive sensory analysis of aged Cheddar cheese. *Lebensm Wiss Technol* 36:13–20
54. During, A., H.D. Dawson, e E.H. Harrison. 2005. Carotenoid transport is decreased and expression of the lipid transporters SR-BI, NPC1L1, and ABCA1 is downregulated in Caco-2 cells treated with ezetimibe. *J. Nutr.* 135, 2305–2312.
55. Fauquant, C., V. Briad, N. Leconte, e M.C. Michalski. 2005. Differently sized native milk fat globules separated by microfiltration: fatty acid composition of the milk fat globule membrane and triglyceride core. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.* 107, 80-86.
56. Ferlay, A., B. Martin, P. Pradel, J.B. Coulon, e Y. Chilliard. 2006. Influence of grass-based diets on milk fatty acid composition and milk lipolytic system in Tarentaise and Montbéliarde cow breeds. *J. Dairy Sci.* 89, 4026-4041.
57. Ferlay, A., C. Agabriel, C. Sibra, C. Journal, B. Martin, e Y. Chilliard. 2008. Tanker milk variability in fatty acids according to farm feeding and husbandry practices in a French semi-mountain area. *Lait* 88, 193-215.
58. Ferlay, A., J. Chabrot, Y. Elmeddah, e M. Doreau. 1993. Ruminant lipid balance and intestinal digestion by dairy cows fed calcium salts of rapeseed oil fatty acids or rapeseed oil. *J. Anim. Sci.* 71, 2237-2245.
59. Ferreira IMPLVO, Pinho Olívia, Sampaio Paulo (2009) Volatile fraction of DOP “Castelo Branco” cheese: Influence of breed. *Food Chemistry* 112:1053–1059.
60. FIL-IDF 148A:1995 Milk, enumeration of somatic cells, method C – fluoro-opto-electronic method (Fossomatic).

61. Fredeen, A.H. 1996. Considerations in the nutritional modification of milk composition. *Anim. Feed Sci. Technol.* 59, 185-197.
62. Gabaldo, G., A. De Palma, A. Fusari, S. Gaino, D. Mastrangelo, M. Pizzicara, S. Tinelli, e A. Ubaldi. 2007. L' uso degli acidi grassi polinsaturi (FOG3) nel periodo di transizione della bovina da latte. *Journal of the Italian Association for Buiatrics* 2, 1-21.
63. Garcia, S.C., e C.W. Holmes. 2001. Lactation curves of autumn- and spring-calved cows in pasture-based dairy systems. *Liv. Prod. Sci.* 68, 189-203.
64. Giaccone, P., A. Bonanno, G. Leto, M.L. e Alicata, P. Messina. 1982. La Razza Modicana Nel Tempo. Capacità Riproduttiva E Riproduzione. *Riv. Zootecnica Veterinaria*.
65. Giaccone, P., e M. Tortorici. 1982. Morfologia Della Mammella Nella Razza Modicana. *Zoot. Nutr. Anim.* 8, 281 –288.
66. Grandison, A.S., D.J. Manning, D. J. Thompson, e M. Anderson. 1985. Chemical composition, rennet coagulation properties and flavour of milks from cows grazing ryegrass or white clover. *J. Dairy Res.* 52, 33-39.
67. Grandison, A.S., G.D. Ford, A.J. Owen, e D. Millard. 1984. Chemical composition and coagulating proprieties of rennet Friesian milk during the transition from winter rations to spring grazing. *J. Dairy Res.*, 51, 69-78.
68. Griinari, J. M., P.Y. Chouinard e D.E. Bauman. Ithaca NY 1997. Trans fatty acid hypotesis of milk fat depression revised. *Proc. Cornell Nutr. Conf. Feed Manuf.* pp. 208-216.
69. Gusmeroli, F. 2004. Il piano di pascolamento: strumento fondamentale per una corretta gestione del pascolo.
70. Harmon, R.J., M. Lu, D.S. Trammel, e B.A. Smith. 1997. Influence of heat stress and calving on antioxidant activity in bovine blood (Abstract). *J. Dairy Sci.* 80, 264.

71. Havemose, M. S., M.R. Weisbjerg, W.L.P. Bredie, e J.H. Nielsen. 2004. Influence of feeding different types of roughage on the oxidative stability of milk. *International Dairy Journal* 14, 563–570.
72. Heid, H.W., e T.W. Keenan. 2005. Intracellular origin and secretion of milk fat globules. *Eur. J. Cell Biol.* 84, 245-258.
73. Houseknecht, K.L., J.P. Vanden Heuvel, S. Moya-Camarena, C.P. Portocarrero, L.W. Peck, K.P. Nickel e M.A. Belury. 1998. Dietary Conjugated linoleic acid normalizes impaired glucose tolerance in the sugar diabetic fatty fa/fa rat. *Biochim. Biophys. Res. Com.* 244, 678-682.
74. Hulshof, P.J.M., T. Van Roeckel-Jansen, P. Van de Bovenkamp, e C.E. West. 2006. Variation in retinol and carotenoid content of milk and milk products in The Netherlands. *J. Food Comp. Anal.* 19, 67–75.
75. Ip, C., M. Singh, H.J. Thompson e J.A. Scimeca. 1994. Conjugated linoleic acid suppresses mammary carcinogenesis and proliferative activity of the mammary gland in the rat. *Cancer Res.* 54, 1212-1215.
76. Ip, C., S.P. Briggs, A.D. Haegele, H.J. Thompson, J. Storkson e J.A. Scimeca. 1996. The efficacy of conjugated linoleic acid in mammary cancer prevention is independent of the level or type of fat in the diet. *Carcinogenesis* 17, 1045-1050.
77. Ip, C., Y. Dong, e M.M. Ip. 2002. Conjugated acid isomers and mammary cancer prevention. *Nutr Cancer.* 43, 52-58.
78. ISO 707, Milk and milk products — Guidance on sampling
79. Jahreis, G., J. Fritsche e J. Kraft. 1999. Species-dependent, seasonal, and dietary variation of conjugated linoleic acid in milk. *Advances in Conjugated Linoleic Acid Research*, 1, 215–225.
80. Jenkins, T.C. 1993. Lipid metabolism in the rumen. *J. Dairy Sci.* 76, 3851-3859.
81. Jenkins, T.C., e M.A. McGuire. 2006. Major advances in nutrition: impact on milk composition. *J. Dairy Sci.* 89, 1302-10.

82. Jiang, J., L. Bjoerck, R. Fonden, e M. Emanuelson. 1996. Occurrence of conjugated *cis*-9, *trans*-11-octadecadienoic acid in bovine milk: effects of feed and dietary regimen. *J. Dairy Sci.* 79, 438-445.
83. Jou KD, Harper WJ (1998) Pattern recognition of Swiss cheese aroma compounds by SPME/GC and an electronic nose. *Milchwissenschaft* 53:26–30
84. Kalac, P., e P. McDonald. 2006. A review of the changes in carotenes during ensiling of forages. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 32, 767-772.
85. Kamal, E.A., e L.A. Appelqvist. 1996. The chemistry and antioxidant properties of tocopherols and tocotrienols. *Lipids*, 31, 671–701.
86. Kelly, M.L., E.S. Kolver, D.E. Bauman, M.E. Vanamburgh e L.D. Muller. 1998. Effect of intake of pasture on concentration of conjugated linoleic acid in milk of lactating cows. *J. Dairy Sci.* 81, 1630-1636.
87. Kelly, M.L., E.S. Kolver, D.E. Bauman, M.E. Vanamburgh e L.D. Muller. 1998. Effect of intake of pasture on concentration of conjugated linoleic acid in milk of lactating cows. *J. Dairy Sci.* 81, 1630-1636.
88. Khanal, R.C., T.R. Dhiman, e R.L. Boman. 2008. Changes in fatty acid composition of milk from lactating dairy cows during transition to and from pasture. *Liv. Sci.* 114, 164-175.
89. King, R.L., F.A. Burrows, R.W. Hemken, e D.L. Bashore. 1967. Control of oxidized flavor by managed intake of vitamin E from selected forages. *J. Dairy Sci.* 50, 943.
90. Kivmac, E., e C. Carpena. 1973. Level of vitamin E in some conventional feeding stuffs and effects on genetic variety, harvesting, processing and storage. *Acta Agric. Scand.* 19 (suppl.1), 162.
91. Kraggerud, H., S. Skeie, M. Hoy, L. Rokke, e R.K. Abrahamsen. 2008. Season and ripening temperature influence fatty acid composition and sensory properties of semi-hard cheese during maturation. *Int. Dairy J.* 18, 801-810.
92. La Zootecnia In Italia. 2000. ISTAT. Volume tematico, 5° censimento generale per l'agricoltura.

93. Lanni, C. 2008. Microscopia ottica: evoluzione dalla fluorescenza tradizionale a quella confocale. *Laboratorio* 2000 6, 50-56.
94. Lanza, A., G. Licitra, G. D'urso, M. Avondo, e L. Biondi. 1991. Produzione Quanti-Qualitativa Di Latte Ed Andamento Delle Curve Di Lattazione Di Bovine Modicane E Frisone In Sicilia. *Atti Società Italiana Delle Scienze Veterinarie*. Xlv- Parte III,1677–1681.
95. Leto, G. 1983. La Razza Bovina Modicana Alla Luce Delle Più Recenti Indagini. *Tip. Don Orione*.
96. Leto, G., e M. Alicata. 1983. Prove Comparative Della Produzione Del Vitellone Modicano E Charolais X Modicana. *Riv. Zoot. Vet.* 11, 63-69.
97. Licitra, G., e V. Bottazzi. 2001. *Il Ragusano: Formaggio d'Autore*
98. Licitra, G., S. Carpino, I. Galletti, M. Avondo, S. Barresi, E. Tumino, e P.J. Van Soest. 1995. I Pascoli naturali del ragusano. A cura del Progetto Ibleo-Centro Ricerche Filiera Lattiero-Caseraria, Ragusa. Cap. II. Pp, 43-44.
99. Licitra, G., S. Galletti, S. Carpino, F. Lauria, M. Lanza, I. Schadt, e P.J. Van Soest. 1995. Progetto ibleo: composizione botanica dei pascoli del ragusano.
100. Lopez, C., e V. Briad-Bion. 2007a. The composition, supramolecular organisation and thermal properties of milk fat: a new challenge for the quality of food products. *Lait* 87, 317-336.
101. Lourenco, M., G. Van Ranst, B. Vlaeminck, S. De Smet, e V. Fievez. 2008. Influence of different dietary forages on the fatty acid composition of rumen digesta as well as ruminant meat and milk. *Anim. Feed Sci. Technol.* 145, 418-437.
102. Lucas, A., E. Rock, J.F. Chamba, I. Verdier-Metz, P. Brachet, e J.B. Coulon. 2006. Respective effects of milk composition and the cheese-making process on cheese compositional variability in components of nutritional interest. *Lait* 86, 21-41.
103. Malacarne, M., A. Summer, P. Formaggioni, P. Franceschi, e P. Mariani. 2001. Composizione in acidi grassi del grasso del latte di quattro razze bovine

- allevate nella zona di produzione del Parmigiano Reggiano. *Annali Fac. Med. Veterinaria dell'Università di Parma* 21, 249-259.
104. Mariaca RG, Berger TFH, Gauch R, Imhof M, Jeangros I, Bernard B, Jacques O (1997) Occurrence of volatile mono- and sesquiterpenoids in highland and lowland plant species as possible precursors for flavour compounds in milk and dairy products. *J Agric Food Chem* 45:4423–4434
105. Mariani, P., e M. Pecorari. 1987. Fattori genetici, attitudine alla caseificazione e resa del latte in formaggio. *Sci. Tecn. Latt.-Cas.* 38, 286-326.
106. Marilley L, Ampuero S, Zesiger T, Casey MG (2004) Screening of aroma-producing lactic acid bacteria with an electronic nose. *Int Dairy J* 14 (10):849–856
107. Martin, B., I. Verdier-Mez, S. Buchin, C. Hurtaud, e J.B. Coulon. 2005. How do the nature of forages and pasture diversity influence the sensory quality of dairy livestock products?. *Animal Science* 81, 205-212.
108. Martin, B., V. Fedele, A. Ferlay, P. Grolier, E. Rock, D. Gruffat, e Y. Chilliard. 2004. Effects of grass-based diets on the content of micronutrients and fatty acids in bovine and caprine dairy products. In: Lüscher, A., Jeangros, B., Kessler, W., Huguenin, O., Lobsiger, M., Millar, N., Suter, D. (Eds.), *Land Use Systems in Grassland Dominated Regions*, vol. 9. Vdf, Zürich, pp. 876–886.
109. Martini, M., e P.Verità, D. Cianci. 1999. Rassegna bibliografica sulla qualità del latte ovino. *Centro Tipografico Università di Pisa*: 1-161.
110. McDowell, L.R., S.N. Williams, N. Hidioglou, C.A. Njeru, G.M. Hill, L. Ochoa, e N.S. Wilkinson. 1996. Vitamin E supplementation for the ruminant. *Animal Feed Science Technology* 60, 273-296.
111. McPherson, A., e B.J. Kitchen. 1983. Review of the progress of Dairy Science: The bovine milk fat globule membrane - its formation, composition, structure and behaviour in milk and dairy products. *J. Dairy Res.* 50, 107-133.

112. Mensink, R.P., E. Temme, H.M., e J. Plat. 1998. Dietary fats and coronary heart disease, in: Food Lipids. Akoh C. C., C. Min D.B. (Ed.), New York, USA, pp. 507-535.
113. Michalski, M.C., J.Y. Gassi, M.H. Famelart, N. Leconte, B. Camier, F. Michel, e V. Briard. 2003. The size of native milk fat globules affects physico-chemical and sensory properties of Camembert cheese. *Lait* 83, 131-143.
114. Michalski, M.C., M. Ollivon, V. Briard, N. Leconte, e C. Lopez. 2004. Native fat globules of different sizes selected from raw milk: thermal and structural behavior. *Chem. Phys. Lipids. Mixed Ration Diet. J. Dairy* 132, 247-261.
115. Michalski, M.C., V. Briard, e P.Juaneda. 2005a. CLA profile in native fat globules of different sizes selected from raw milk. *Int. Dairy J.* 15, 1089-1094.
116. Noziere, P., B. Graulet, A. Lucas, B. Martin, P. Grolier, e N. Doreau. 2006. Carotenoids for ruminants: from forages to dairy products. *Animal Feed Science and Technology* – 131, 418-450.
117. Nudda, A., M. Feligini, G. Battacone, N.P.P. Macciotta, e G. Pulina. 2003. Effects of lactation stage, parity, β lactoglobulin genotype and milk SCC on whey protein composition in Sarda dairy ewes. *Italian Journal of Animal Science* 2, 29-39.
118. Nudda, A., M. Mele, G. Battacone, M. G. Usai, e N. P. P. Macciotta. 2003. Comparison of conjugated linoleic acid (CLA) content in milk of ewes and goats with the same dietary regimen. *Ital. Journal Animal Science* 2(Suppl. 1), 515–517.
119. O’Riordan PJ, Delahunty CM (2003a) Characterisation of commercial Cheddar cheese flavour. 1: traditional and electronic nose approach to quality assessment and market classification. *Int Dairy J* 13:355-370.
120. O’Keefe, S.F. 1998. Nomenclature and classification of lipids, in: Food Lipids. Akoh C. C., C. Min D.B. (Ed.), New York, USA, pp. 1-36.

121. Palmquist, D.L., A.D. Beaulieu, e D.M. Barbano. 1993. Feed and animal factors influencing mil fat composition. *J. Dairy Sci.* 76, 1753-1771.
122. Palmquist, D.L., e R.G. Jensen. 2008. Fatty acid in milk fat, in: *Fatty acids in foods and their health implications*, 3rd edition, *Ching Kuang Chow (Ed.)*, pp. 109-126.
123. Parodi, P.W. 1999. Conjugated linoleic acid and other anticarcinogenic agents of bovine milk fat. *J. Dairy Sci.* 82, 1339-1349.
124. Pillonel L, Ampuero S, Tabacchi R, Bosset JO (2003) Analytical methods for the determination of the geographic origin of Emmental cheese: Volatile compounds by GC/MS-FID and electronic nose. *European Food Research and Technology* 216:179–183.
125. Prache, S., A. Priolo, e P. Grolier. 2003. Persistence of carotenoid pigments in the blood of concentrate-finished grazing sheep: its significance for the traceability of grass-feeding. *J. Anim. Sci.* 81, 360–367.
126. Precht, D., J. Molquentin, F. Destailats e R. L. 2001. Wolff. Comparative studies on individual isomeric 18:1 acids in cow, goat and ewe milk fats. *Lipids* 36, 827–832.
127. Pulina, G., A. Nudda, N.P.P. Macciotta, G. Battaccone, S.P.G. Rassu, e A. Cannas. 2007. Non nutritional factors affecting lactation persistency in dairy ewes: A Rewiew. *Italian Journal of Animal Science* 6, 83-103.
128. Quarantelli, A., F. Righi, M. Renzi, e A. Bonomi. 2003. Processi ossidativi negli alimenti di origine vegetale. *Ann. Fac. Med. Vet. di Parma.* 23, 181-202.
129. Rubino, R. 1997. *Pascolo e Latte*. Liviana Editrice.
130. Russo, G.L., V. Della pietra, C. Mercurio, R. Palumbo, G. Iacomino, M. Russo, M. Tosto, e V. Zappia. 1999. Protective effects of butyric acid in colon cancer. *Advances in experimental medicine and biology* 472, 131-147.
131. Salvadori del Prato, O. 1998. *Trattato di tecnologia casearia*. Edagricole (Ed.), Bologna.

132. Schaller E, Bosset JO, Escher F (1998) 'Electronic Nose' and their application to food. *Lebensm Wiss Technol* 31:305-316
133. Secchiari, P. 2006. Gli isomeri dell'Acido Linoleico Coniugato (CLA): aspetti biochimici ed effetti nutraceutici. *Le Medicine Integrate* - 2, 16-19.
134. Secchiari, P., M. Mele, A. Serra, e F. Paoletti. Firenze, 6 marzo 2002. Le frazioni lipidiche del latte e della carne dei ruminanti. *Atti Conv. "Giornata di studio su: latte e carne dei ruminanti componente lipidica e salute umana"*, pp. 7-96.
135. Secchiari, P., M. Mele, e A. Serra. 2007. L'acido linoleico coniugato nella carne e nel latte dei ruminanti: principali fattori di variazione genetici ed alimentari. *Progress in Nutrition* 2, 108-123.
136. Sehovic J (1991) Consideration on the chemical composition in the quality estimation of the natural grassland forages. *Rev Suisse Agric* 23:305-310
137. Shipe WF, Ledford RA, Peterson RD, Scanlan RA, Geerken HF, Duogherty RW, Morgan ME (1962) Physiological mechanisms involved in transmitting flavors and odors to milk. II. Transmission of some flavour components of silage. *J Dairy Sci* 45:477-480
138. Slots, T., L.H. Skibsted, e J.H. Nielsen. 2006. The difference in transfer of all-rac- α -tocopherol stereo-isomers to milk from cows and the effect on its oxidative stability. *International Dairy Journal*, 1-9.
139. Smith, W.L., P. Borgeat, e Fitzpatrick F.A. 1991. The eicosanoid: cyclooxygenase, lipoxygenase, and epoxygenase pathway In: *Biochemistry of Lipids, Lipoproteins and Membranes*. Vance, D. E. e Vance, J., eds., Elsevier, Amsterdam 297-325.
140. Stanton, C., F. Lawless, G. Kjellmer, D. Harrington, Devery R., J.F. Connolly, e J. Murphy. 1997. Dietary influences on bovine milk cis9, trans-11-conjugated linoleic acid content. *J. Food Sci.* 62, 1083-1086.
141. Strzalkowska, N., J. Krzyzewski, L. Zwierzchowski, e Z. Ryniewicz, 2002. Effects of κ -casein and β -lactoglobulin loci polymorphism, cows' age, stage of

- lactation and somatic cell count on daily milk yield and milk composition in Polish Black-and-White cattle. *Animal Science Papers and Reports* 20, 21-35.
142. Thompson, H.J., Z. Zhu, S. Banni, K. Darcy, T. Loftus, e C. Ip. 1997. Morphological and biochemical status of the mammary gland as influenced by conjugated linoleic acid: implication for a reduction in mammary cancer risk. *Cancer Res.* 57, 5067-5072.
143. Timmen, H., e S. Patton. 1988. Milk fat globules: fatty acid composition, size and in vivo regulation of fat liquidity. *Lipids* 23, 685-689.
144. Ubertalle, A., M. Profiti, L.M. Battaglini, A. Mimosi, e R. Fortina. 1998. Milk urea nitrogen of Italian Friesian and Valdostana R.P. dairy cattle. *Scienza e Tecnica Lattiero-Casearia*, 49 - 5, 249-265.
145. Urbach G (1990) Effect of feed on flavor in dairy foods. *J Dairy Sci* 73:3639–3650
146. Urbiené, S., A. Ciuckinas, e J. Margelyté. 1997. Physical and chemical properties and the biological value of goat's. *Milchwissenschaft* 52, 427-430.
147. Viallon C, Martin B, Verdier-Metz I, Pradel P, Garel JP, Coulon JB, Berdague J L (2000) Transfer of monoterpenes and sesquiterpenes from forages into milk fat. *Lait* 80:635–641.
148. Walstra, P. 1967. On the crystallization habit in fat globule. *Neth. Milk Dairy J.* 21, 166-191.
149. Walstra, P., e R. Jenness. 1984. *Dairy chemistry and physics*. John Wiley & Sons Inc. (Ed.), New York, USA.
150. Weiss, W.P., J.S. Hogan, K.L. Smith, e K.H. Hoblet. 1990. Relationships among selenium, vitamin E, and mammary gland health in commercial dairy herds". *Journal Dairy Science* - 73, 381.
151. Yang, A., M.J. Brewster, M.G. Lanari, e R.K. Tume. 2002. Effect of Vitamin E supplementation on alpha tocopherol and beta-carotene concentrations in tissues from pasture- and grain-fed cattle. *Meat Sci.* 60, 35–40.