



UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI PADOVA

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

TESI DI LAUREA IN SCIENZE E TECNOLOGIE ANIMALI

Messa a punto di una metodica per la determinazione della resa casearia individuale del latte di Bufala mediterranea

Relatore:

Dott. ALESSIO CECCHINATO

Correlatore:

Dott. CLAUDIO CIPOLAT-GOTET

Dott. GIORGIA STOCCO

Laureando:

ROSARIO SCIRE' SCAPPUZZO

Matricola n. 480221

ANNO ACCADEMICO 2012-2013

Riassunto

L'obiettivo del presente studio è stato quello di testare alcune fonti di variazione nei confronti della resa casearia a livello di singolo animale e di altri caratteri che definiscono l'efficienza del processo di caseificazione. Da dicembre 2010 a novembre 2011 è stato campionato il latte di 180 bufale allevate in 7 allevamenti localizzati nel nord-est dell'Italia.

È stata utilizzata una metodica di micro-caseificazione utilizzando 0.5 l di latte per campione analizzando per giornata di lavorazione fino a 24 campioni. I campioni di latte sono stati riscaldati (35°C per 30 min), inoculati con uno starter ad inoculo diretto (90 min), mescolati con il caglio ed è stato determinato manualmente il tempo di coagulazione. Le cagliate sono state tagliate (10 min dopo il tempo di coagulazione), separate dal siero, e lasciate riposare (per 30 min), quindi, pressate (per 18 ore utilizzando un peso di 1 kg), pesate e campionate. Anche il siero è stato pesato e campionato. Il latte, la cagliata ed il siero sono stati analizzati per il pH, la sostanza secca, il grasso, la proteina e l'energia stimata. Sono state stimate 3 tipologie di resa: %CY_{CURD}, %CY_{SOLIDS} e %CY_{WATER}, le quali rappresentano il rapporto rispettivamente tra il peso del formaggio, la sostanza secca della cagliata e l'acqua della cagliata sul peso del latte utilizzato. Inoltre per le tre rese sono stati calcolati i kg di formaggio prodotto al giorno sulla base della produzione di latte giornaliera (dCY, kg/d). Infine, sono state calcolate 3 misure di recupero (REC) dei nutrienti nella cagliata: REC_{FAT}, REC_{PROTEIN} e REC_{SOLIDS}, che rappresentano rispettivamente il rapporto tra il peso del grasso, della proteina e della sostanza secca nella cagliata ed il corrispondente componente nel latte. Il recupero dell'energia, REC_{ENERGY}, rappresenta il contenuto energetico della cagliata rispetto quello del latte.

I valori medi (\pm DS) sono stati i seguenti: %CY_{CURD} = 25.6 \pm 3.8, %CY_{SOLIDS} = 12.9 \pm 2.0 %CY_{WATER} = 12.7 \pm 1.9, dCY_{CURD} = 1.92 \pm 0.72, dCY_{SOLIDS} = 0.97 \pm 0.36, dCY_{WATER} = 0.95 \pm 0.37, REC_{FAT} = 94.0 \pm 5.7, REC_{PROTEIN} = 85.6 \pm 5.0, REC_{SOLIDS} = 67.8 \pm 4.2, and REC_{ENERGY} = 80.0 \pm 3.4. Tutte le variabili sono state influenzate dallo stadio di lattazione mentre l'ordine di parto ha avuto un minore effetto sui caratteri oggetto di studio. Sia il %CY_{CURD} che il dCY_{CURD} dipendono non solo dai contenuti di grasso e di proteina (caseina) nel latte, ma anche dalle loro proporzioni ritenute nella cagliata.

La metodica descritta ed i risultati ottenuti hanno caratterizzato la variabilità fenotipica della resa casearia e degli altri caratteri che definiscono l'efficienza del processo di caseificazione. Bisogna sottolineare, però, che per effettuare su questi caratteri degli studi a livello di popolazione si rende necessario l'utilizzo di tecniche di misura indiretta (MIR).

Abstract

The aim of this study was to investigate sources of variation of cheese yield (MCP) and milk nutrients recovery in the curd of buffalo cows. Individual milk samples were collected from 180 animals in 7 herds located in northern Italy from December 2010 to November 2011.

Here, we report a high-throughput cheese manufacturing process that mimics all phases of cheese-making, uses 0.5 l samples of milk from individual animals, and allows the simultaneous processing of 24 samples per run. Milk samples were heated (35°C for 30 min), inoculated with starter culture (90 min), mixed with rennet, and recorded for gelation time. Curds were cut once (10 after gelation), separated from the whey, drained (for 30 min), pressed (18 hours using a weight of 1 kg), weighed, and sampled. Whey was collected, weighed, and sampled. Milk, curd, and whey samples were analyzed for pH, total solids, fat content, and protein content and energy content estimated. Three measures of percentage cheese yield (%CY) were calculated: %CY_{CURD}, %CY_{SOLIDS}, and %CY_{WATER}, representing the ratios between the weight of fresh curd, the total solids of the curd, and the water content of the curd, respectively, and the weight of the milk processed. In addition, 3 measures of daily cheese yield (dCY, kg/d) were defined, considering the daily milk yield. Three measures of nutrient recovery (REC) were computed: REC_{FAT}, REC_{PROTEIN}, and REC_{SOLIDS}, which represented the ratio between the weights of the fat, protein, and total solids in the curd, respectively, and the corresponding components in the milk. Energy recovery, REC_{ENERGY}, represented the energy content of the cheese compared with that in the milk. The average values (\pm SD) were as follows: %CY_{CURD} = 25.6 \pm 3.8, %CY_{SOLIDS} = 12.9 \pm 2.0, %CY_{WATER} = 12.7 \pm 1.9, dCY_{CURD} = 1.92 \pm 0.72, dCY_{SOLIDS} = 0.97 \pm 0.36, dCY_{WATER} = 0.95 \pm 0.37, REC_{FAT} = 94.0 \pm 5.7, REC_{PROTEIN} = 85.6 \pm 5.0, REC_{SOLIDS} = 67.8 \pm 4.2, and REC_{ENERGY} = 80.0 \pm 3.4. All traits were highly influenced by days in milk of the buffalo, moderately influenced by parity, and weakly influenced by daily milk production. Both %CY_{CURD} and dCY_{CURD} depended not only on the fat and protein (casein) contents of the milk, but also on their proportions retained in the curd. The described model cheese-making procedure and the results obtained provided new insight into the phenotypic variation of cheese yield and recovery traits at the individual level.

Finally, for studies at the population level, indirect methods (MIR technique) are needed to estimate these traits reducing the time and cost of analysis.

Indice	
Riassunto	3
Abstract.....	5
Indice	7
1 Introduzione	9
1.1 Il settore lattiero-caseario bufalino in Italia e nel Veneto	9
1.2 Caratteristiche del bufalo italiano	13
1.3 Principali differenze tra il latte bufalino e vaccino.....	15
1.4 Attitudine casearia del latte di bufala.....	17
2 Obiettivi	23
3 Materiali e Metodi	25
3.1 Disegno sperimentale	25
3.2 Micro-caseificazione	25
3.3 Analisi statistica	30
4 Risultati e discussione.....	31
5 Conclusioni	41
6 Bibliografia	43

1 Introduzione

1.1 Il settore lattiero-caseario bufalino in Italia e nel Veneto

Il bufalo (*Bubalus Bubalis*) è generalmente classificato in tipo di palude (Swamp) e tipo di fiume (River): da quest'ultimo deriva il "Bufalo Mediterraneo italiano". Il bufalo Swamp è il tipico animale da lavoro ed è diffuso nelle risaie dell'Asia; il bufalo River è, invece, allevato prevalentemente in India, in Pakistan ma anche in Egitto e nei Paesi del Mediterraneo: la più importante funzione produttiva di questa tipologia di bufalo è il latte.

Si fa risalire l'introduzione del bufalo in Italia intorno al VI secolo d.C., ed è certo che in seguito non vi furono ulteriori introduzioni con ceppi provenienti da altri Paesi del mondo. Fino alla fine degli anni '60, in Italia, il bufalo era presente in 9 province e quattro regioni, mentre nel 1999 era già distribuito in 35 province ed in 15 regioni, dove la Campania (78.25%), il basso Lazio (14.65%) e la Puglia (2.16%) detenevano complessivamente il 95% del patrimonio bufalino italiano. Tra il 1990 e il 2012 la numerosità degli allevamenti di bufala è aumentata significativamente (Figura 1). Infatti il numero degli allevamenti è cresciuto del 57% dal 1990 al 2002 per poi stabilizzarsi intorno ai 290 allevamenti. La consistenza ha segnato un continuo aumento durante tutto il periodo registrando nel 2012 un +144% con un totale di 56,000 capi controllati. Il numero medio di capi controllati per allevamento è passato da 84 a 190 capi (+83%) (tabella 1).

Figura 1. Trend dal 1990 al 2012 dell'allevamento bufalino in Italia (1990 = base 100) (ANASB)

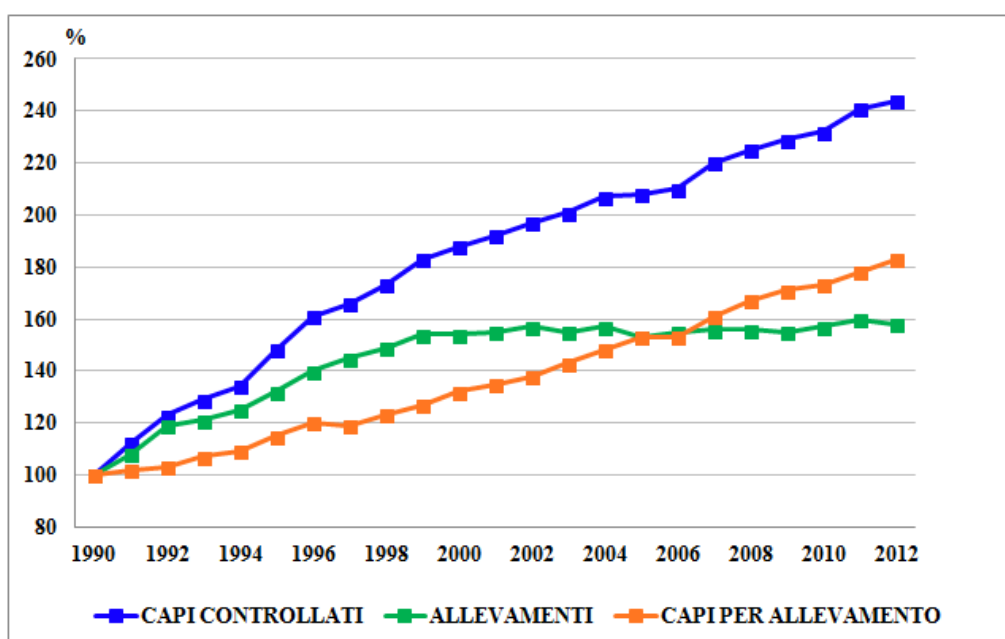


Tabella 1. Principali dati del settore bufalino dall'anno 1990 al 2012 (ANASB, 2013)

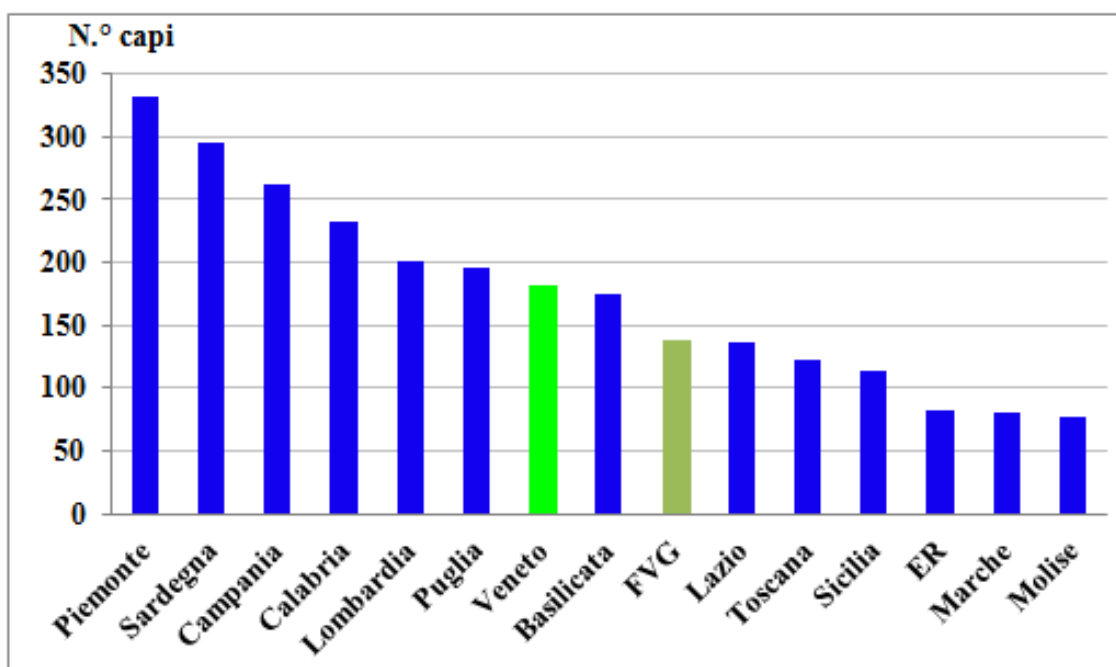
Regioni	Media latte,kg	Grasso,%	Proteina, %	Capi controllati	Allevamenti	Capi x allev.
1990	1,893	8.1	4.00	14,080	168	84
1991	1,911	8.16	4.41	15,786	183	86
1992	1,891	8.25	4.00	17,661	203	87
1993	1,919	8.11	4.54	18,624	206	90
1994	1,896	8,00	4.54	19,627	214	92
1995	1,970	8,00	4.55	22,374	230	97
1996	1,999	8.26	4.00	25,288	247	102
1997	2,032	8.07	4.66	26,497	260	102
1998	2,064	8.00	4.00	28,400	270	105
1999	2,092	8.00	4.80	31,133	283	110
2000	2,145	8.35	4.74	32,806	284	116
2001	2,145	8.39	4.66	33,928	286	119
2002	2,168	8.00	4.00	35,755	292	122
2003	2,175	8.10	4.00	36,966	287	129
2004	2,184	8.06	4.68	39,439	294	134
2005	2,169	8.07	4.00	39,925	282	142
2006	2,178	8.09	4.67	40,425	286	141
2007	2,211	8.18	4.66	44,430	290	153
2008	2,221	8.24	4.66	46,799	290	161
2009	2,182	8.39	4.00	48,535	288	169
2010	2,180	8.00	4.59	50,240	292	172
2011	2,223	8.50	4.66	54,548	302	181
2012	2,218	8.00	4.70	56,075	295	190

Per quanto riguarda la produzione di latte, durante il periodo tra il 1990 e il 2012, la media di kg di latte prodotti per animale ha segnato un aumento continuo, registrando nel 2012 circa 2,200 kg di latte rispetto ai 1,900 kg circa prodotti nel 1990 (ANASB, 2013).

Nel 2012 circa l'85% delle bufale controllate in Italia è concentrato principalmente in 3 regioni: la Campania con circa 27,000 bufale controllate, il Lazio con circa 17,000 e la Puglia con 3,535. Il Veneto, dopo la Lombardia e il Piemonte, è al 6° posto, registrando una percentuale del 2.26% con 1,269 bufale controllate. (ANASB, 2013).

Il Piemonte detiene il maggior numero di capi controllati per allevamento (332), seguito da Sardegna (297 capi per allevamento), Campania (262 capi per allevamento), Calabria (233 capi per allevamento), Lombardia (200 capi per allevamento) e Puglia (196 capi per allevamento). Il Friuli Venezia Giulia presenta 137 capi per allevamento, trovandosi circa a metà tra i dati delle altre regioni italiane e prima della Regione Lazio (Figura 2).

Figura 2. Numero capi controllati per allevamento nelle regioni italiane (ANASB, 2013)



In Veneto, invece, relativamente al periodo tra il 2004 e il 2012, il numero di capi controllati per allevamento è passato da 720 a 1269 ed il numero di aziende è cresciuto da 4 a 7 con una media di capi allevati che non si discosta di molto dal 2004. Da 180 capi/allevamento a 181.3 nel 2012 (Tabella 2).

Tabella 2. Numero di capi controllati, di allevamenti e di capi per allevamento in Veneto dal 2004 al 2012 (ANASB, 2013)

Anno	Capi controllati	Allevamenti	Capi/allevamento
2004	720	4	180.0
2005	837	4	209.3
2006	815	4	203.8
2007	796	5	159.2
2008	987	5	197.4
2009	921	5	184.2
2010	980	6	163.3
2011	1238	6	206.3
2012	1269	7	181.3

Nel 2011 la prima regione produttrice italiana di latte di bufala è stata la Campania con circa 1,620,000 quintali. Successivamente in seconda posizione si è posizionato il Lazio con circa 226,000 quintali, seguito dalla Sicilia con quasi 32,000 quintali. Il Friuli Venezia Giulia e il Veneto si sono posizionati in quarta e quinta posizione, registrando rispettivamente una produzione di 11,484 quintali e di 10,039 quintali, superiore a quella di altre regioni italiane tra cui Puglia, Lombardia, Toscana e Piemonte.

Nell'anno 2012, la Sardegna presenta la più elevata media di latte con 2,500 kg, mentre l'Emilia Romagna registra la più bassa media di latte con 1,456 kg. Il Friuli Venezia Giulia presenta una produzione media di 2,180 kg, seguito da Lazio, Lombardia e Puglia. Il Veneto si trova tra le ultime regioni, prima di Molise, Marche ed Emilia Romagna, con una produzione media di 2,043 kg, non lontana dalla media italiana che è di 2,130 kg.

Nell'anno 2012, relativamente alla percentuale di proteina, l'Emilia Romagna ha registrato il più alto valore con il 4.79% seguita da Basilicata, Lombardia, Lazio e Campania. Il Friuli Venezia Giulia e il Veneto hanno presentato i valori più bassi, rispettivamente con 4.59% e 4.50% (la media italiana in contenuto di proteina nel latte di bufala è di 4.65%). Per quanto riguarda la percentuale di grasso nel latte di bufala, nel 2012, Veneto e Friuli Venezia Giulia si sono posizionate nelle ultime posizioni rispetto alle altre regioni italiane, registrando rispettivamente un contenuto in grasso di 7.78% e 7.71%. E' risultato primo il Piemonte con 8.91% di grasso seguito da Lombardia e Campania a pari merito con 8.46%, Marche con 8.41% ed Emilia Romagna con 8.24% al pari della Basilicata (mediamente, il dato italiano di grasso contenuto nel latte di bufala è di 8.17%).

1.2 Caratteristiche del bufalo italiano

I bufali presentano una certa somiglianza con i bovini dei quali hanno l'aspetto generale nonché il carattere scheletrico delle 13 paia di coste. La sagoma è più tozza, il tronco più largo e più alto. I tratti somatici caratteristici del bufalo sono la mancanza della giogaia nel margine inferiore del collo, la convessità frontale, la forma delle corna che sono dapprima volte verso l'esterno e poi ripiegate con le punte convergenti. Il pelo è nero e scarso, a tal punto che la pelle resta quasi nuda. La pelle ha una colorazione nera tendente al rossiccio o grigio ardesia, che nel ventre diventa più chiara, è più spessa e coriacea e presenta un maggior numero di ghiandole sebacee con attività secretiva tale da renderla untuosa al tatto. Al contrario le ghiandole sudoripare sono limitate. Gli zoccoli sono appiattiti e allargati alla base.

Il comportamento è legato alle caratteristiche morfologiche. Infatti per la limitata presenza di ghiandole sudoripare, il bufalo ama sguazzare nell'acqua e coprirsi di fango per proteggersi dalla calura. La particolare forma degli zoccoli gli permette di avanzare anche sui terreni molli e paludosi. Sembra che il bufalo sia un animale più intelligente del bovino, difatti conosce e risponde al proprio nome specie se cantilenato e usa osservare con insistenza gli "intrusi" seguendoli con gli occhi in ogni loro movimento.

Anche dal punto di vista fisiologico vi sono delle differenze tra il bufalo ed il bovino, essendo di specie diverse non corrisponde il numero di cromosomi che sono 48 anziché 66 (questo non permette incroci tra i due). Il dimorfismo sessuale nei bufali non è nettamente accentuato: il maschio è più tozzo e con il collo più largo e alto, e raggiunge i 7 – 8 quintali, mentre la femmina si aggira intorno ai 5 quintali. La pubertà del bufalo è tardiva: nelle femmine la si ha attorno ai 2 anni, e il toro viene usato ai 2–2.5 anni di età (tabella 3). Il riconoscimento del calore non è facile: spesso le bufale si lasciano montare anche se non sono in calore. In generale il calore dura un paio di giorni e quando il toro è mantenuto nella stessa mandria, questo le monta più e più volte. La stagionalità dei calori è concentrata soprattutto in autunno: infatti il bufalo è una specie poliestratale tendenzialmente stagionale con ripristino dell'attività ciclo ovarica durante il fotoperiodo decrescente, con parti concentrati in estate e inverno. Questo porta un notevole problema per l'allevatore in quanto la massima richiesta di latte di bufala è concentrata in primavera ed estate, quando il prezzo del latte subisce un incremento, data la maggiore richiesta di mozzarella da parte dei consumatori (al contrario del latte bovino la cui richiesta resta pressoché invariata durante tutto l'anno). Proprio per questo motivo si cerca di destagionalizzare il periodo riproduttivo posticipando

l'accoppiamento delle bufale attraverso una programmazione imperniata sull'inserimento dei tori nella mandria mantenuta libera, provocando un estro indotto dalla presenza del maschio. La durata media della gravidanza è di 315 giorni, più lunga di circa un mese rispetto a quella della vacca di 280 giorni e l'età media al primo parto si aggira attorno ai 42 mesi (36–56 mesi). L'interparto mediamente è di 18 mesi. Il peso medio dei bufalotti alla nascita è di 38–39 kg nei maschi e 35–36 kg nelle femmine. La carriera produttiva delle bufale è eccezionalmente lunga e la produzione di latte è soddisfacente. Le bufale raggiungono anche un'età di 18–20 anni con punte di 15 lattazioni, motivo per cui il tasso della rimonta è molto basso. La lattazione della bufala ha una durata media di 270 giorni, inferiore a quella della vacca che è di 305 giorni (Correale et al., 1995), con produzioni annue di 16–18 quintali. La produzione giornaliera massima nella bufala si raggiunge entro i 60 giorni dall'inizio della lattazione, nella vacca il picco della lattazione si raggiunge verso il 50° giorno. Nella bufala, la produzione più bassa si registra nella prima lattazione e alla terza si raggiunge un livello produttivo che non tende più ad aumentare (Balasini 2000).

Tabella 3. Caratteristiche riproduttive di bufala e bovina a confronto (Hafez E. S., 2011)

	BUFALA Media (limiti)	BOVINA Media (limiti)
Età alla pubertà (mesi)		
Maschio	27 (24-36)	12 (7-18)
Femmina	30 (24-36)	15 (10-24)
Ciclo estrale		
Durata (giorni)	21 (18-22)	21 (14-29)
Estro (ore)	21 (17-24)	18 (12-30)
Ovulazione dalla fine dell'estro (ore)	16 (15-18)	12 (10-12)
Età al primo parto (mesi)	42 (36-56)	30 (24-36)
Durata della gestazione (giorni)	315 (305-330)	280 (278-293)
Interparto (mesi)	18 (15-21)	13 (12-14)

Negli ultimi decenni sono state eseguite prove di miglioramento genetico allo scopo di incrementare la produttività dell'animale (qualità e quantità di latte) ma anche per implementare alcuni caratteri riproduttivi come il miglioramento della precocità, la diminuzione dell'intervallo interparto con l'obiettivo, anche, destagionalizzare i parti. I metodi più comunemente utilizzati riguardano prove di progenie e l'ausilio di biotecnologie innovative per il progresso genetico.

1.3 Principali differenze tra il latte bufalino e vaccino

Il latte di bufala costituisce oltre il 12% della produzione mondiale di latte: esso è secondo solo al latte vaccino, il quale supera l'80%. Nel subcontinente indiano, la maggior parte del latte prodotto è di origine bufalina che rappresenta più del 50% della produzione mondiale. India e Pakistan insieme rappresentano il 90% della produzione totale mondiale di latte bufalino. In Europa vengono prodotti piccoli volumi di latte bufalino: in particolare l'Italia, la Bulgaria, la Romania e la Germania rappresentano gli Stati europei con maggiore presenza della specie bufalina.

In Italia il latte di bufala è utilizzato esclusivamente per la produzione di prodotti lattiero-caseari. Per quanto riguarda la composizione, rispetto al latte vaccino, il latte di bufala si presenta maggiormente ricco di componenti e con un contenuto minore di acqua (81.5% vs 87.5%; tabella 4). Il pH oscilla tra il 6.6 – 6.8, e dipende dallo stadio di lattazione e dal tipo di alimentazione. L'acidità titolabile media è di 4.3-5.0°SH: questa gioca un ruolo fondamentale nelle fasi della coagulazione del latte. Essa influenza anche il tasso di aggregazione delle micelle di para-caseina, la reattività al caglio, il tasso di sineresi e determina l'idoneità della trasformazione del latte (De Marchi, et al. 2009). Secondo Correale et al. (1995) l'acidità titolabile è anche una misura indiretta della ricchezza del latte in proteina e fosfati. Il contenuto di grasso in media è di 8.2 %, all'interno del quale vi è una prevalenza dell'acido oleico tra gli acidi insaturi e del acido palmitico tra gli acidi saturi (ANASB, 2013). Durante la lattazione, nell'intervallo compreso tra il 14° e 225° giorno dal parto, il tenore di grasso tende a salire fino a 71 giorni per poi stabilizzarsi fino a 130 giorni. Successivamente il suo valore sale costantemente e presenta una flessione solo all'ultimo prelievo nel 225° giorno (Potena et al., 2001). Mediamente il lattosio si aggira intorno al 5%. Il suo andamento durante la lattazione è opposto a quello per proteina e grasso. Il tenore di urea mantiene valori crescenti fino circa al picco di lattazione (60°giorno) per poi calare fino al 171°giorno. Il punto crioscopico medio è di -0.56 e -0.59 °C, durante la lattazione intorno al 109° giorno presenta il valore più basso, mentre intorno al 171° giorno il valore più alto (Potena et al., 2001). A differenza del latte di vacca che presenta un contenuto di grasso pari a 3.6 – 4.5%, il contenuto in grasso nel latte di bufala è all'incirca il doppio (7.0 - 9.6%). La percentuale di proteina è di 4.3% nel latte di bufala, anche in questo caso risulta maggiore rispetto alla percentuale contenuta nel latte di vacca, che presenta una media del 3.7%. Questi diversi valori contribuiscono senz'altro alla tipicità del prodotto trasformato, grazie alla diversa consistenza che esso assume alla fine della caseificazione. Inoltre conferiscono una maggiore resa di trasformazione. Infatti, dal latte fresco di

bufala, presentando questi contenuti di grasso e proteina, si ottiene una resa media a fresco del 25% circa. La resa a fresco del latte bufalino risulta superiore di circa 1.8 volte rispetto quella del latte vaccino (ANASB, 2013). Le due specie presentano anche una differente percentuale di caseina. Il latte di bufala contiene 3.6% di caseina rispetto al 2.8% del latte di vacca. Questa diversa composizione caseinica, oltre a caratterizzare la trasformazione, è importante poiché consente, tramite analisi, di individuare una frode molto comune: la presenza di latte vaccino nel prodotto venduto come mozzarella integrale di bufala.

Altro aspetto della tipicità del latte di bufala è strettamente legato alla natura microbiologica del latte. Particolare importanza assume infatti la composizione della microflora lattica. In condizioni normali, nel latte di bufala sono presenti alcuni ceppi di lattobacilli in concentrazioni superiori a quelle contenute nel latte vaccino. Proprio dall'attività metabolica di questi bacilli risultano il sapore e l'aroma tipici della mozzarella di bufala campana, attraverso la produzione di particolari sostanze e composti. Questa attività sembra inoltre influire notevolmente sul fenomeno di acidificazione della cagliata durante la trasformazione (ANASB, 2013).

Tabella 4. Composizione media del latte di bufala a confronto con il latte di vacca.

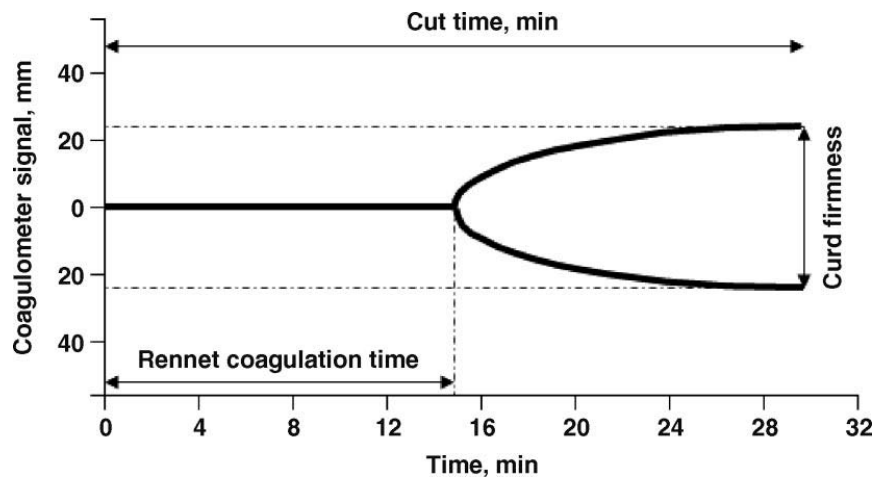
Composizione	Latte di bufala	Latte di vacca
Acqua %	81.5	87.5
Sostanza Secca %	18.5	12.5
Residuo magro %	10.3	9
Caseina %	3.6	2.8
Lattoalbumina e lattoglobulina %	0.7	0.6
Totale sostanze azotate %	4.3	3.7
Grasso %	7.0-9.6	3.6-4.5
Lattosio %	5	4.5
Ceneri %	0.8	0.75
Calcio mg/100g	180-240	120-160
Fosforo mg/100g	120-140	65-110
Rapporto Ca/P	1.61	1.31
Sodio mg/100g	40	50
pH	6.5-6.7	6.6-6.7
Acidità Titolabile (SH)	4.2-5.0	3.3-3.5
Punto crioscopico (-°C)	0.56-0.59	0.52-0.55
Peso specifico	1.033	1.031
Potere Calorifico di 100g di latte	114.4	66.2
Diametro dei globuli (micron)	1.0-6.0	1.0-10.0

1.4 Attitudine casearia del latte di bufala

In Italia le produzioni lattiero-casearie occupano uno spazio importante dell'economia: infatti si collocano al primo posto tra i settori della trasformazione alimentare. La redditività derivante dagli allevamenti di bufala nel nostro Paese è garantita dall'esistenza di un prodotto come la mozzarella, che ha assunto nel mercato internazionale un'immagine ben definita, tutelata da una certificazione DOP, riconosciuta da un numero sempre maggiore di Paesi. Inoltre si è registrato un incremento dell'interesse mondiale nei confronti dell'allevamento del bufalo, dovuto al ruolo critico svolto da questa specie in molti paesi dove è impiegata per la produzione di latte, carne e lavoro. L'aumento dell'interesse nei confronti del bufalo, è dimostrato anche da un sensibile aumento della richiesta di seme e di embrioni di bufalo Mediterraneo Italiano, da parte di un numero sempre maggiore di paesi del mondo (ANASB, 2013). L'attenzione nei confronti della bufala di razza Mediterranea Italiana è giustificata dalle migliori performance produttive, emerse dal lavoro svolto in anni di selezione genetica e documentate con la creazione del Libro Genealogico istituito nel 1980 grazie al Prof. De Franciscis (Zicarelli et al., 2001). Inoltre la scarsa redditività degli allevamenti da latte bovino, che interessano in modo particolare le regioni centro-meridionali dell'Italia, negli ultimi anni ha spinto molti allevatori a cambiare indirizzo produttivo e a passare all'allevamento delle bufale. Come effetto principale di questa diffusa conversione vi è stato un aumento della disponibilità del latte di bufala, con conseguente blocco del prezzo di mercato. Tale fenomeno si sta diffondendo anche nelle aree del nord Italia dove la domanda di latte da destinare alla produzione di mozzarella è in fase di espansione (ISMEA, 2006). Vista la destinazione del latte bufalino è facilmente intuibile l'importanza dell'attitudine casearia del prodotto di questa specie.

Negli ultimi 30 anni lo strumento che ha trovato maggiore impiego per la definizione di alcuni caratteri legati all'attitudine casearia è stato il lattodinamografo (LDG): si tratta di uno strumento con rilevazioni meccaniche che registra le variazioni di consistenza durante l'analisi dei campioni di latte che stanno coagulando (dopo l'aggiunta del caglio). Tradizionalmente, questa analisi fornisce tre dati significativi per la valutazione dell'attitudine casearia, che costituiscono un grafico detto tromboelastografo (figura 3).

Figura 3. Tromboelastografo tipo (De Marchi, et al. 2009)



I parametri rilevati sono:

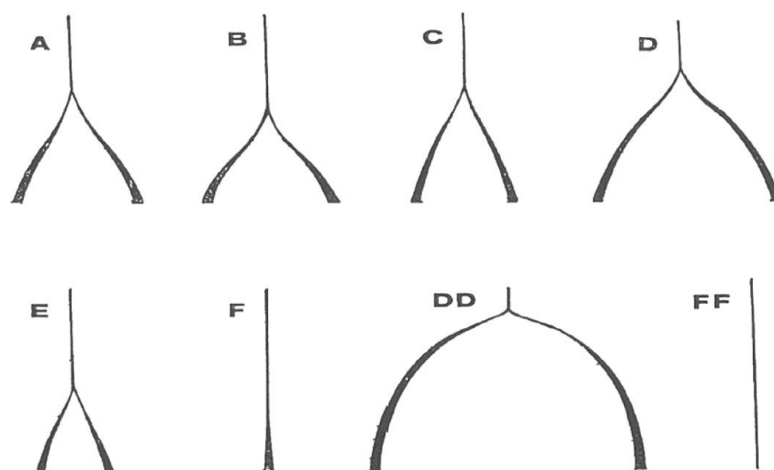
- RCT: tempo di coagulazione: il tempo che intercorre tra l'inserimento del caglio e l'inizio della coagulazione presamica;
- k_{20} : tempo di rassodamento del coagulo: il tempo che intercorre tra l'inizio della coagulazione e il momento in cui la cagliata raggiunge una consistenza di 20 mm;
- a_{30} : consistenza del coagulo: misurato in mm indica la consistenza del coagulo a 30 minuti dall'aggiunta del caglio.

L'analisi LDG fornisce dei dati che consentono di classificare il latte analizzato utilizzando 7 classi principali, dalla A alla F, in cui la prima è rappresentata da un latte ottimale che coagula in breve tempo (tra gli 11,5 e i 18 minuti) con una buona consistenza del coagulo, mentre l'ultima è rappresentata da un latte non idoneo alla caseificazione in quanto presenta tempi di coagulazione molto lunghi con cagliate quasi inconsistenti (tabella 5). Da una prima indagine lattodinamografica sul latte di bufala effettuata da Mincione et al. nel 1982 è emerso che i lattodinamogrammi tipici per la bufala potrebbero essere rappresentati da quello in figura 4 di tipo DD, usato da Annibaldi et al. (1977) per indicare latti vaccini iperacidi, nei quali le varie fasi del processo di caseificazione si evolvono velocemente.

Tabella 5. Classificazione dell'attitudine casearia del latte

Classi	Velocità di coagulazione	Consistenza del coagulo	Caratteristiche del latte
A	Ottima	Ottima	Ottimo
B	Lenta	Buona	Tarda lattazione
C	Rapida	Scarsa	Inizio lattazione
D	Rapida	Altissima	Acido e/o ricco di caseina
E	Lenta	Scarsa	Mastite settica e alto SCC
F	Lentissima	Scarsissima	Mastiti cliniche, elevato SCC
DD	Rapidissima	Forte	Molto acido
FF	Non Coagulato	Non Coagulato	-

Figura 4. Classificazione dei tracciati lattodinamografici più comuni (Annibaldi et al., 1977)



Oltre ad utilizzare strumenti meccanici, negli ultimi anni si stanno sviluppando anche strumenti ottici a raggi infrarossi, tarati con modelli matematici sviluppati dal confronto con i risultati ottenuti dagli strumenti tradizionali.

In uno studio di Cecchinato et al. (2012) sono state analizzate le proprietà di coagulazione del latte di bufala italiana. In particolare sono state campionate 200 bufale in 5 allevamenti presenti nel nord-est (Veneto e Friuli Venezia Giulia) dell'Italia. I risultati ottenuti hanno evidenziato una ottima attitudine alla coagulazione del latte bufalino con un tempo di coagulazione medio di 11.62 min ed una consistenza del coagulo di 40.22 mm. Coagulazioni più rapide sono state invece evidenziate da Bonfatti et al. (2012) con un RCT medio di 8.80 min ma con una simile consistenza del coagulo (41.79 mm). In quest'ultimo studio le bufale campionate (più di 500) provenivano da allevamenti campani.

In generale i parametri lattodinamografici descrivono la coagulazione del latte ma non danno una chiara identificazione della resa casearia ottenibile dal campione di latte analizzato.

Come detto precedentemente, la resa casearia rappresenta il carattere che può dare migliori indicazioni sul risultato finale del processo di caseificazione. La resa casearia è definita come i kg di formaggio ricavati da 100 kg di latte, ed è influenzata dal suo contenuto di proteine e di grasso. Infatti, durante la coagulazione, le caseine creano una maglia in cui rimangono intrappolati i globuli di grasso che contribuiscono così alla resa finale. Bisogna ricordare che per ogni tipologia di formaggio la tecnologia di produzione cambia, influenzando quindi anche la resa.

La resa, i recuperi dei singoli costituenti del latte nella cagliata e le perdite di questi nel siero definiscono l'efficienza del processo di caseificazione (Banks, 2007). In generale queste caratteristiche sono influenzate principalmente da due aspetti che riguardano la qualità della materia prima e il processo di caseificazione adottato. Per quanto riguarda la qualità del latte, essa è influenzata da fattori legati all'animale, come la specie (Othmane et al., 2002; Zicarelli et al., 2007), la razza (Malacarne et al., 2006; De Marchi et al., 2008), lo stadio di lattazione (Wedholm et al., 2006), il numero di lattazioni (Wedholm et al., 2006), la dieta (Banks et al., 1986) e lo stato di salute (Politis and Ng-Kwai-Hang, 1988). Per quanto riguarda i fattori legati al processo di caseificazione, come la manipolazione e lo stoccaggio del latte prima della trasformazione e la metodica adottata, essi sono ben spiegati in una review di Lucey e Kelley (1994).

Per la determinazione della resa casearia a livello individuale, si rende necessaria la messa a punto di una metodica di micro-caseificazione in cui venga utilizzato un piccolo quantitativo di latte per campione. In generale questo tipo di prove sperimentali sono costose e spesso necessitano di lunghe tempistiche per la riuscita del processo di caseificazione. Negli ultimi 30 anni molti studi (Hicks et al., 1981; Hurtaud et al., 1995; Cologna et al., 2009) hanno presentato delle metodiche di caseificazione da laboratorio utilizzando quantitativi differenti di latte per campione (1ml-10 l).

Othmane et al., (2002) hanno effettuato uno studio a livello individuale della resa casearia sulla pecora in cui sono stati stimati i parametri genetici su questo carattere. In questo caso è stato utilizzato un piccolo quantitativo di latte per campione (10 ml) per cui non è stato possibile determinare il completo bilancio che descrive il passaggio dei nutrienti dal latte alla cagliata.

Cipolat-Gotet et al. (2013) hanno invece determinato il completo bilancio del processo di caseificazione utilizzando campioni individuali di bovine di razza bruna. In questo caso il quantitativo utilizzato è stato di 1,500 ml per campione. Sugli stessi caratteri Bittante et al. (2013) hanno determinato i parametri genetici.

Nel caso della bufala sono pochi gli studi che hanno affrontato questo argomento. Zicarelli et al.

(2007) hanno determinato la resa casearia in 325 bufale campionate nell'area campana (1 litro per campione).

In questo caso non è stata determinata la composizione chimica del siero o della cagliata: per cui non è stato possibile analizzare il completo bilancio del processo di caseificazione. Inoltre, nell'analisi dei risultati ottenuti, non sono state considerate le fonti di variazione dovuti all'animale come ad esempio lo stadio produttivo dell'animale (produzione di latte, stadio di lattazione ed ordine di parto) o gli aspetti genetici.

Si rendono quindi necessari degli studi che vadano a caratterizzare la resa casearia ed il recupero dei nutrienti nella cagliata del latte individuale di bufala considerando le fonti di variazione che maggiormente spiegano le variazioni di composizione chimica del latte.

2 Obiettivi

La resa di caseificazione rappresenta un carattere strategico per il miglioramento dell'efficienza produttiva del settore lattiero-caseario.

Lo studio della resa di caseificazione può essere svolto a livello di latte individuale e di latte di massa. Diversi lavori sono stati svolti con l'obiettivo di investigare le fonti di variazione della resa di caseificazione a livello di latte di massa; ad oggi, invece, pochi sono gli studi che hanno proposto la valutazione della resa casearia a livello individuale. Studi a livello individuale sulla stima dei parametri genetici sono stati effettuati sia sulla vacca che sulla pecora.

Non sono presenti in bibliografia delle ricerche che analizzino le fonti di variazione nella resa casearia della bufala a livello individuale legate allo stadio produttivo dell'animale. Per questo motivo l'obiettivo del presente studio è stato quello di caratterizzare la resa casearia ed altri caratteri che definiscono l'efficienza del processo di caseificazione utilizzando latte individuale (500 ml) di bufale allevate nel nord-est Italia. In secondo luogo, si sono valutate le fonti di variazione legate allo stadio produttivo dell'animale considerando l'effetto dello stadio di lattazione, dell'ordine di parto e della produzione di latte giornaliera.

3 Materiali e Metodi

3.1 Disegno sperimentale

Da dicembre 2010 a novembre 2011 sono stati effettuati dei prelievi di latte a livello individuale in 7 allevamenti bufalini distribuiti nel nord-est Italia (6 in Veneto ed 1 in Friuli Venezia Giulia) per un totale di 180 soggetti. Per ogni animale sono stati prelevati circa 600 ml di latte per lo svolgimento delle seguenti analisi:

- 1) determinazione della composizione chimica del latte (proteina, caseina, grasso, lattosio, urea) e delle cellule somatiche utilizzando rispettivamente il MilkoScan FT2 ed il Fossomatic (FossElectric A/S, Hillerod, Denmark);
- 2) micro-caseificazione utilizzando 500 ml di latte per campione;
- 3) misurazione del pH (latte, siero e cagliata) utilizzando un pHmetro Crison PH 25 dotato di elettrodo 5232.

Tutte le analisi sono state svolte presso il laboratorio di micro-caseificazione del dipartimento di Agronomia, Animali, Alimenti, Risorse naturali e Ambiente (DAFNAE; Università di Padova).

Inoltre per quanto riguarda lo stato fisiologico (giorni di lattazione, ordine di parto) delle bufale e la produzione in latte, sono stati utilizzati i dati provenienti dai controlli funzionali effettuati dalle APA di riferimento (Treviso, Venezia e Friuli Venezia Giulia).

3.2 Micro-caseificazione

Nel laboratorio di micro-caseificazione del dipartimento di Agronomia, Animali, Alimenti, Risorse naturali e Ambiente (DAFNAE) dell'Università di Padova, è stata allestita una postazione di micro-caseificazione. L'attrezzatura necessaria per le micro-caseificazioni comprende principalmente 3 bagnomaria ognuno dei quali provvisto di un termostato avente un display digitale per la regolazione della temperatura e, per ciascun bagnomaria, sono posizionati 8 contenitori in acciaio inox (pozzetti) con capacità di 500 ml di latte (3x8). La metodica di lavorazione prevede lo svolgimento di determinate operazioni a tempi prestabiliti (Figura 5):

- Prelievo del latte individuale refrigerato (4°C) dal frigorifero;
- Riempimento dei pozzetti con 500 ml di latte;
- Peso del latte prima dell'inserimento nel bagnomaria;
- Posizionamento dei pozzetti nel bagnomaria, impostato ad una temperatura di 35°C;
- Misurazione di pH e T° dopo 25 min dall'inizio del riscaldamento;

- Dopo 30 min di riscaldamento, aggiunta di 1 ml di starter termofilo (*streptococcus termophilus*) a inoculo diretto (DELVO-TEC TS-10A DSL, DSM) solubilizzato in precedenza; la preparazione dello starter consiste nella solubilizzazione dello stesso con latte UHT ed agitazione tramite vortex. Prima dell'effettivo utilizzo, lo starter è lasciato ad incubare per 30 minuti alla temperatura di processo (35°C) al fine di favorire l'adattamento e la crescita dei batteri.
- aggiunta di 3.2 ml/pozzetto della soluzione enzimatica (1,6% di caglio liquido di bovino (NATUREN TM STANDARD 160, Hansen 160 IMCU/ml));
- Rilevamento manuale del RCT tramite cucchiaino da laboratorio;
- Rassodamento della cagliata (10 min);
- Taglio a croce del coagulo 10 min dopo il rilevamento del RCT;
- Sineresi (5 min);
- Separazione della cagliata dal siero; la cagliata viene posizionata sopra dei colini metallici per favorire lo sgrondo del siero che viene recuperato in contenitori in acciaio posizionati nella parte sottostante ai colini.
- Riposo della cagliata (30 min) al termine del quale la stessa viene rivoltata e riposizionata sul colino.
- Pressatura di 18 h utilizzando un peso di 1 kg posizionato sopra la cagliata.
- Pesata di siero e cagliata e misura dell'acidità.
- Prelievo di un campione di cagliata e di siero per la determinazione della composizione chimica.

La composizione del siero è stata determinata utilizzando un MilkoScan FT2 (FossElectric A/S, Hillerod, Denmark) mentre la composizione della cagliata è stata determinata tramite FoodScan (FossElectric A/S, Hillerod, Denmark).

Come già accennato negli obiettivi, in questo studio sono stati calcolati dei nuovi caratteri con lo scopo di definire l'efficienza del processo di caseificazione. Questo è stato possibile in quanto è stato misurato il peso e la composizione chimica dell'input utilizzato (latte) e degli output ottenuti (siero e cagliata).

La definizione di tutti i caratteri presi in esame è stata effettuata tenendo in considerazione il peso e la composizione del latte iniziale mentre la composizione del siero e della cagliata è stata determinata dopo la fase di pressatura (18 h); sono state stimate 3 tipologie di resa differenti:

- La resa casearia (CY_{CURD} , %) è stata determinata tramite il rapporto tra il peso della cagliata, espresso in grammi, ed il peso del latte, anch'esso espresso in grammi:

$$\%CY_{CURD}(\%) = \frac{\text{cagliata (g)}}{\text{latte (g)}} * 100$$

- La resa in sostanza secca (CY_{SOLIDS} , %) è stata determinata tramite il rapporto tra il peso della sostanza secca presente nella cagliata, espresso in grammi, sul peso totale del latte, anch'esso espresso in grammi:

$$\%CY_{SOLIDS}(\%) = \frac{\text{sostanza secca cagliata (g)}}{\text{latte (g)}} * 100$$

- La resa in acqua (CY_{WATER} , %) è stata determinata tramite il rapporto tra il peso dell'acqua presente nella cagliata, espresso in grammi, sul peso totale del latte, anch'esso espresso in grammi:

$$\%CY_{WATER}(\%) = \frac{\text{acqua cagliata (g)}}{\text{latte (g)}} * 100$$

Inoltre sono stati stimati i recuperi nella cagliata di alcuni componenti (grasso, proteina, sostanza secca ed energia) del latte (%):

- Il recupero di grasso nella cagliata (REC_{FAT} , %) è stato calcolato tramite il rapporto del grasso nella cagliata, espresso in grammi, sul grasso totale del latte, anch'esso espresso in grammi:

$$REC_{FAT}(\%) = \frac{\text{grasso cagliata (g)}}{\text{grasso latte (g)}} * 100$$

- Il recupero di proteina nella cagliata ($REC_{PROTEIN}$, %), è stato calcolato tramite il rapporto della proteina nella cagliata, espressa in grammi, sulla proteina totale del latte, anch'essa espressa in grammi:

$$REC_{PROTEIN}(\%) = \frac{\text{proteina cagliata (g)}}{\text{proteina latte (g)}} * 100$$

- Il recupero di sostanza secca nella cagliata (REC_{SOLIDS} , %), è stato calcolato tramite il rapporto della sostanza secca nella cagliata, espressa in grammi, sulla sostanza secca totale del latte, anch'essa espressa in grammi:

$$REC_{SOLIDS}(\%) = \frac{\text{sostanza secca cagliata (g)}}{\text{Sostanza secca latte (g)}} * 100$$

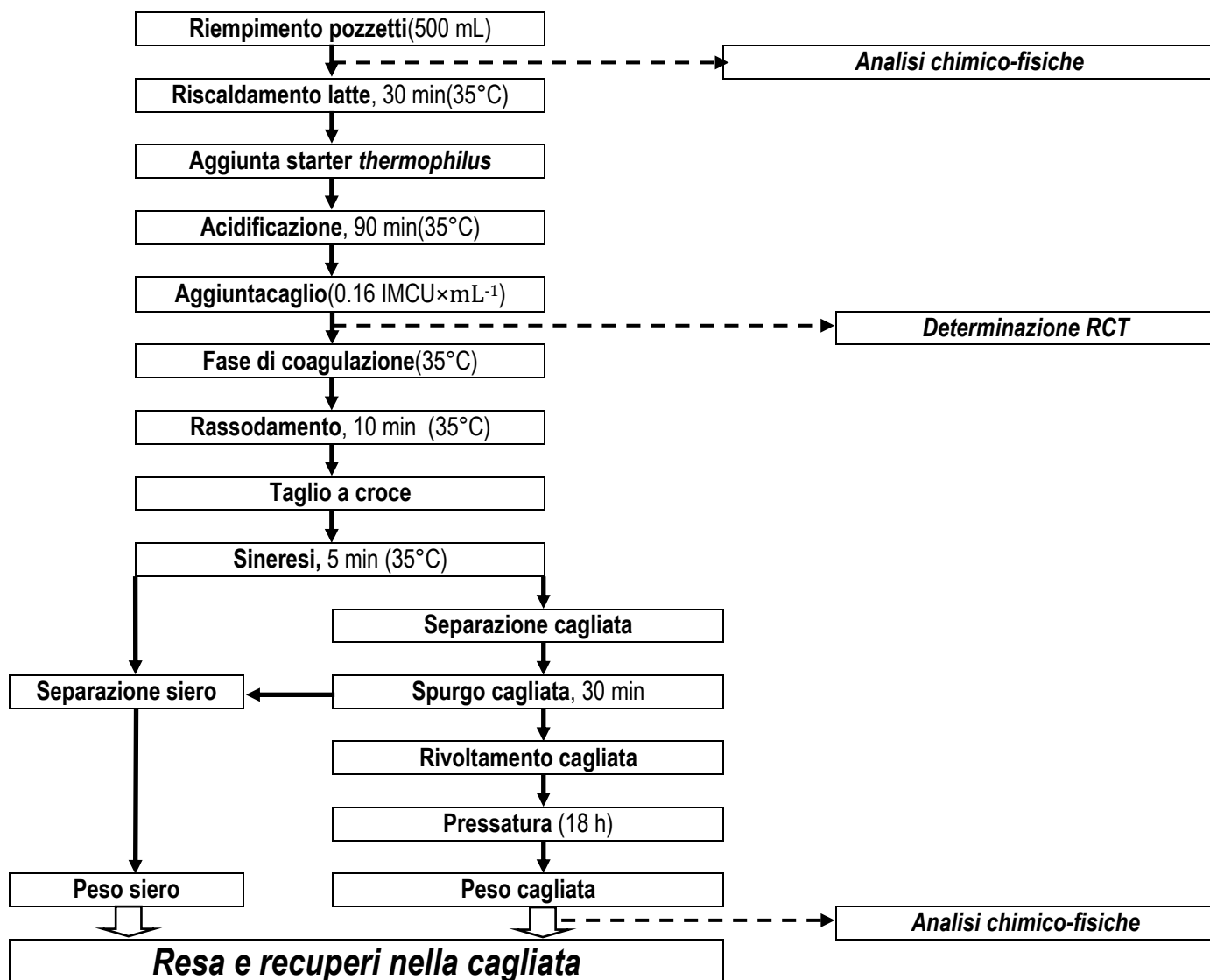
- Il recupero di energia nella cagliata (REC_{ENERGY} , %), è stato calcolato tramite il rapporto dell'energia nella cagliata, espressa in MJ, sull'energia totale del latte, anch'essa espressa in MJ:

$$REC_{ENERGY}(\%) = \frac{\text{acqua cagliata (MJ)}}{\text{acqua latte (MJ)}} * 100$$

L'energia del latte è stata stimata utilizzando un'equazione proposta dall'NRC (2001) per la stima dei fabbisogni energetici della vacca in produzione. Quella della cagliata è stata stimata per differenza tra quella del latte e quella del siero (stimato tramite la stessa equazione utilizza per il latte).

Infine, le rese (totale, sostanza secca e acqua) sono state moltiplicate per la produzione giornaliera del latte al fine di determinare la produzione giornaliera di formaggio (dCY_{CURD} , dCY_{SOLIDS} , dCY_{WATER}) rispettivamente per la resa classica, per la sostanza secca e per l'acqua) in kg.

Figura 5. Fasi di lavorazione della metodica di micro caseificazione



3.3 Analisi statistica

Le informazioni sperimentali sono state analizzate impiegando le procedure del pacchetto statistico SAS (SAS Inst. Inc., Cary, NC).

Per la caratterizzazione dei fattori di variazione endogeni sui parametri di resa casearia è stata utilizzata un ANOVA. Il modello lineare utilizzato è il seguente:

$$y_{ijklmn} = \mu + DIM_i + parity_j + dMY_k + caldaia_l + allevamento_m + e_{ijklmn},$$

dove:

y_{ijklm} = variabile dipendente (CYs, RECs);

μ = intercetta generale del modello;

DIM_i = effetto fisso dell' i^{ma} classe di stadio di lattazione della bufala (classe 1: $dim \leq 60$ giorni; classe 2: $60 \text{ giorni} < dim < 120$ giorni; classe 3: $120 \text{ giorni} < dim < 180$ giorni; classe 4: $180 \text{ giorni} < dim < 240$ giorni; classe 5: $240 \text{ giorni} < dim < 300$ giorni; classe 6: $dim \geq 360$ giorni);

$parity_j$ = effetto fisso della j^{ma} classe di ordine di parto della bufala ($j = da 1 a \geq 5$);

dMY_k = effetto fisso dell' k^{ma} classe di produzione giornaliera di latte della bufala (classe 1: $dMY < 3.6$ kg/d; classe 2: $3.6 \leq dMY < 5.1$ kg/d; classe 3: $5.1 \leq dMY < 6.7$ kg/d; classe 4: $6.7 \leq dMY < 8.3$ kg/d; classe 5: $8.3 \leq dMY < 9.9$ kg/d; classe 6: $9.9 \leq dMY < 11.6$ kg/d; classe 7: $dMY \leq 11.6$ kg/d;

$caldaia_l$ = effetto fisso dell' l^{mo} livello della caldaia (24 livelli);

$allevamento_m$ = effetto random del k^{mo} allevamento (7 allevamenti);

e_{ijklmn} = errore casuale $\sim N(0, \sigma^2 e)$.

Nel caso delle 3 tipologie di dCYs è stato utilizzato lo stesso modello sopra spiegato non includendo l'effetto della produzione di latte giornaliera.

4 Risultati e discussione

In tabella 6 sono riportati i caratteri descrittivi della composizione chimica, del pH del latte, del siero e della cagliata di bufala; per il latte sono riportate anche le cellule somatiche su cui è stata effettuata la trasformazione logaritmica per rendere la distribuzione normale. Le bufale campionate hanno presentato uno stadio di lattazione medio di 142 giorni (DS = 95) ed un ordine di parto medio di 2.96 (DS = 1.48).

Tabella 6. Statistiche descrittive relative alla composizione del latte, del siero e della cagliata

Carattere	Latte		Siero		Cagliata	
	Media	CV	Media	CV	Media	CV
Sostanza Secca, %	18.96	11.67	8.33	8.28	50.43	4.82
Grasso, %	8.54	23.03	0.74	55.49	30.98	11.11
Proteina, %	4.80	11.89	1.09	30.80	16.12	11.43
Lattosio, %	4.93	7.18	5.50	8.45	4.11	27.28
pH	6.71	1.98	5.70	10.76	5.10	2.34
SCS, Units ¹	4.05	49.87	-	-	-	-

¹SCS = $\log_2 (\text{SCC} \times 100,000) + 3$.

Per quanto riguarda il latte, le percentuali di proteina e di grasso sono concordi ai dati riportati da Zicarelli (2001; 4.74% e 8.35%), mentre sono leggermente superiori a quelli di Tiezzi et al. (2009; 4.52% e 7.56%). Il dato riscontrato per la proteina si avvicina molto a quello di Bonfatti et al. (2012; 4.82%), mentre il dato medio del grasso risulta inferiore del 2% circa a quello di Bonfatti et al. (2012; 10.19%) e superiore al valore (7.66%) di Cecchinato et al. (2012). Il più alto contenuto di grasso registrato da Bonfatti et al. (2012) può essere spiegato dall'area geografica in cui sono allevati gli animali campionati (regione Campania): infatti nel presente studio le bufale campionate sono allevate nella regione Veneto. Questo porta a presupporre che ci siano delle evidenti influenze dal punto di vista climatico e manageriale sulla qualità del latte. Bisogna sottolineare che nello studio di Bonfatti et al. (2012) non sono stati indicati i giorni di lattazione medi delle bufale campionate per cui non è possibile confrontare i risultati ottenuti nel presente studio da questo punto di vista. Nel caso dello studio di Cecchinato et al. (2012) lo stadio di lattazione medio è stato di 124 giorni e questo potrebbe spiegare il minor contenuto in grasso del latte rispetto ai risultati da noi ottenuti. Il coefficiente di variazione di grasso e proteina nel latte è risultato essere elevato (23.03 e 11.89 rispettivamente): questo è un dato atteso in quanto i valori medi di questi due

componenti sono più elevati rispetto il latte della bovina. Mediamente, le cellule somatiche hanno mostrato valori inferiori rispetto a quelli di Tiezzi et al. (2009; 4.52) e di Bartocci et al. (2002; 4.14–4.18), mentre sono più alti rispetto a quanto si trova nello studio di Cecchinato et al. (2012; 3.47). Anche il CV di questo carattere è elevato (49.87): questo è un dato atteso in quanto questo carattere è normalmente molto variabile. In generale, i caratteri che presentano un elevato coefficiente di variabilità sono influenzati significativamente da molti fattori (stadio di lattazione, allevamento ecc.), mentre quelli con un basso CV (con valori compresi tra 1–12%) sono maggiormente stabili e non sono influenzati in maniera significativa da fattori di tipo zootecnico. Il siero in media ha presentato un contenuto in grasso di 0.74% e in proteina di 1.09%, e alti coefficienti di variazione (55.49 e 30.80, rispettivamente). I CV sono ovviamente alti in quanti i valori medi sono molto bassi: quindi, piccole variazioni del carattere portano ad una grande variabilità dello stesso. La cagliata, ottenuta mediante il processo di caseificazione individuale, in media ha riportato valori di grasso, proteina e lattosio rispettivamente di 30.98, 16.12 e 4.11 (il contenuto in lattosio della cagliata deriva dalla differenza tra il lattosio del latte e del siero, sul peso della cagliata), con un contenuto in sostanza secca, quindi, di 50.43%.

In tabella 7 vengono confrontate le variabili relative al processo di caseificazione del latte di bufala e di vacca. La resa in formaggio della bufala è mediamente superiore a quella di vacca (25.6 vs 15.0 %, rispettivamente): in questo caso abbiamo osservato quindi una differenza tra le due specie del 70% circa a favore della bufala. Bisogna sottolineare che il contributo in sostanza secca ed acqua (circa il 50%) nella resa casearia è pressoché simile per le due specie: nel caso della bufala la resa in sostanza secca ed in acqua è stata rispettivamente del 12.9 e 12.7% rispetto al 7.2 e 7.8% nel caso della vacca da latte. La produzione giornaliera in formaggio è risultata ovviamente inferiore nella bufala: il risultato è conseguenza della minore produzione di latte della bufala (7.60 kg/giorno) rispetto la vacca (24.62 kg/giorno). Da questo punto di vista la vacca sembra essere più efficiente rispetto la bufala ma bisogna ricordare che i costi di produzione (costi di alimentazione, medicinali ecc.) sono decisamente più bassi nella bufala. I dati medi di dCY_{CURD} , dCY_{SOLIDS} e dCY_{WATER} nella bufala sono stati rispettivamente di 1.92, 0.97, e 0.95 kg/d.

Nel caso dei recuperi sono stati trovati dei risultati interessanti: infatti i valori medi di recupero di proteina, grasso, sostanza secca ed energia nella cagliata sono stati di 85.6%, 94.0%, 67.8% e 80.0% rispettivamente, e superiori rispetto ai valori riscontrati nella vacca (78.1%, 89.8%, 51.9% e 67.2%). Questo sta ad indicare la migliore efficienza di recupero di nutrienti del latte nella cagliata. Non solo, infatti, la bufala produce un latte maggiormente ricco di nutrienti ma il recupero percentuale nella cagliata è maggiore rispetto la bovina. Le differenze percentuali di recupero tra la

bufala e la vacca sono dell'ordine del 7.5%, 4.2%, 15.9% e 12.8% rispettivamente per la proteina, il grasso, la sostanza secca e l'energia.

Tabella 7. Medie e deviazioni standard relative alle variabili che descrivono l'efficienza del processo di caseificazione

	Bufala		Bovina (Cipolat-Gotet et al., 2013)	
	Media	DS	Media	DS
Cheese Yields, %				
%CY _{CURD}	25.6	3.8	15.0	1.9
%CY _{SOLIDS}	12.9	2.0	7.2	0.9
%CY _{WATER}	12.7	1.9	7.8	1.3
Cheese Recoveries, %				
REC _{PROTEIN}	85.6	5.0	78.1	2.4
REC _{FAT}	94.0	5.7	89.8	3.6
REC _{SOLIDS}	67.8	4.2	51.9	3.5
REC _{ENERGY}	80.0	3.4	67.2	3.3
Production traits, kg×d⁻¹				
dMY	7.60	3.19	24.62	7.63
dCY _{CURD}	1.92	0.71	3.63	1.13
dCY _{SOLIDS}	0.97	0.36	1.74	0.57
dCY _{WATER}	0.95	0.37	1.88	0.64

In tabella 8 sono presentati i risultati relative all'analisi della varianza per i caratteri che descrivono l'efficienza del processo di caseificazione. Per le rese ed i recuperi nella cagliata, nel modello lineare utilizzato sono stati inclusi i seguenti effetti fissi: lo stadio di lattazione, l'ordine di parto, la produzione giornaliera e la caldaia utilizzata. L'effetto dell'allevamento, che, in questo studio, è confuso con la data di analisi (in quanto ogni allevamento è stato campionato una sola volta), è stato inserito come random: in tabella 8 è possibile osservare la varianza dei caratteri dovuta all'effetto dell'allevamento ottenuta calcolando la varianza spiegata da questo effetto in rapporto alla varianza totale della variabile. Nel caso delle variabili relative alla resa in kg giornaliera è stato utilizzato lo stesso modello non includendo ovviamente l'effetto della produzione di latte.

Come accennato precedentemente, non esistono studi in bibliografia che abbiano testato gli effetti da noi considerati sulle variabili in esame utilizzando latte individuale di bufala. È, invece possibile effettuare un confronto con la vacca da latte (di razza bruna) prendendo in considerazione lo studio di Cipolat-Gotet et al., (2013) in cui sono stati testati l'effetto dello stadio di lattazione, dell'ordine di parto e dell'allevamento. Nello studio sopra citato non è stato inserito l'effetto della produzione di latte.

Tabella 8. Analisi della varianza (*F*-value and significatività) per (yields and recoveries) la resa casearia e le altre variabili misurate durante il processo di caseificazione

	DIM	Parto	Caldaia	dMY ¹	HTD ² %	RMSE
Cheese Yields, %						
%CY _{CURD}	7.27 ^{***}	1.49 ^{ns}	0.90 ^{ns}	1.78 ^{ns}	0.15	2.92
%CY _{SOLIDS}	12.75 ^{***}	1.29 ^{ns}	1.42 ^{ns}	1.68 ^{ns}	0.09	1.42
%CY _{WATER}	5.55 ^{***}	1.12 ^{ns}	0.80 ^{ns}	1.64 ^{ns}	0.27	1.55
Cheese Recoveries, %						
REC _{PROTEIN}	0.60 ^{ns}	0.61 ^{ns}	1.65 [*]	5.48 ^{***}	0.27	3.68
REC _{FAT}	0.59 ^{ns}	0.27 ^{ns}	1.11 ^{ns}	1.28 ^{ns}	0.44	4.44
REC _{SOLIDS}	4.43 ^{**}	1.35 ^{ns}	1.15 ^{ns}	2.23 [*]	0.03	3.47
REC _{ENERGY}	7.60 ^{***}	1.73 ^{ns}	1.53 ^{ns}	3.68 ^{**}	0.19	2.38
Production traits, kg×d ⁻¹						
dMY	18.51 ^{***}	2.90 [*]	-	-	0.18	2.29
dCY _{CURD}	6.56 ^{***}	0.48 ^{ns}	0.88 ^{ns}	-	0.22	0.58
dCY _{SOLIDS}	6.58 ^{***}	0.43 ^{ns}	0.83 ^{ns}	-	0.21	0.29
dCY _{WATER}	6.57 ^{***}	0.57 ^{ns}	0.86 ^{ns}	-	0.25	0.29

¹dMY = daily milk yield, kg×d⁻¹.

²Herd/Test day = effetto espresso come proporzione (%) della varianza spiegata dall'effetto dell'allevamento campionato calcolata dividendo la corrispondente varianza con la varianza totale.

³RMSE = Root means square error.

* $P < 0.05$; ** $P < 0.01$; *** $P < 0.001$; ns = non significativo.

Per quanto riguarda lo stadio di lattazione, l'effetto è risultato significativo sia per le rese ($P < 0.001$) che per due tipologie di recuperi (sostanza secca ed energia; $P < 0.01$). Il trend (figura 7) di questi caratteri osservato nella lattazione è simile a quello trovato nella vacca da latte. Bisogna sottolineare che nel presente studio la classificazione dei DIM ha previsto classi di 60 giorni

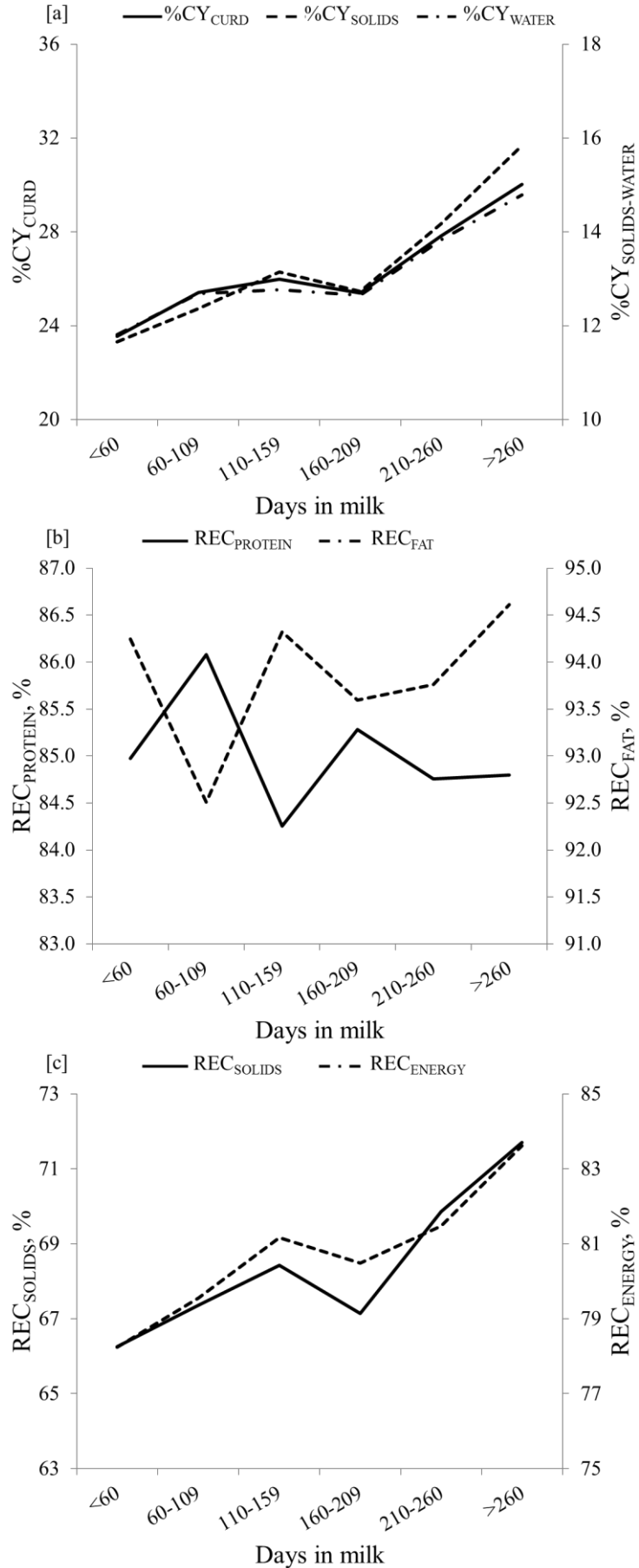
ciascuna mentre nello studio di Cipolat-Gotet et al. (2013) sono state considerate classi da 30 giorni: proprio per questo, a differenza dello studio precedente, non è stato possibile distinguere i risultati ottenuti proprio a livello del picco di produzione del latte.

È giusto ricordare che, comunque, in entrambi gli studi l'effetto di lattazione è stato testato al pari dell'effetto di produzione di latte. Nel caso delle rese (figura 7a) è stato osservato un aumento all'avanzare della lattazione. La massima differenza osservata tra la più elevata LS-MEANS e la più bassa è stata di 6.50%, 4.19% 2.97% rispettivamente per %CY_{CURD}, %CY_{SOLIDS} e %CY_{WATER}. Queste differenze sono più elevate rispetto a quelle osservate nello studio precedentemente citato ed evidenziano, quindi, un forte effetto di questa fonte di variazione.

Nel caso di REC_{PROTEIN} e REC_{FAT} l'effetto non è risultato significativo e non è stato osservato nessun trend nella lattazione (figura 7b). È stata osservata, invece, una certa significatività per il recupero della sostanza secca nella cagliata e di conseguenza per il recupero di energia (figura 7c). Il trend osservato assomiglia a quello presentato da Cipolat-Gotet et al. (2013) nella vacca da latte con un aumento della sostanza secca recuperata nella cagliata con il proseguire della lattazione. Nel caso delle 3 dCYs, è stata osservata una diminuzione dei kg di formaggio prodotto al giorno durante la lattazione della bufala: anche in questo caso, è stato osservato un trend simile nella vacca da latte (risultati non mostrati). In questo caso, però, le differenze durante la lattazione tra la massima produzione giornaliera ed i valori minimi ottenuti, sono state inferiori rispetto la vacca da latte: questo è il risultato delle minori differenze in termini di produzione di latte (kg) nella bufala rispetto la vacca durante la lattazione.

Per quanto riguarda l'ordine di parto, questo effetto non è risultato significativo per nessun parametro rilevato durante la caseificazione. Per queste variabili non sono state osservate differenze importanti tra bufale con differente ordine di parto. Anche nel caso della vacca da latte l'ordine di parto non era risultato significativo per molti caratteri anche se era stato evidenziato un trend negativo per quanto riguarda il recupero di proteina della cagliata in vacche con più parti. Anche nel presente studio è risultata esserci una diminuzione del recupero della proteina all'aumentare del numero di parti delle bufale ma non è stata osservata nessuna significatività (tabella 9): questo per la maggiore variabilità del carattere rispetto a quanto riportato per la vacca da latte; in realtà la differenza tra il più alto valore di LS-MEANS ed il più basso è stato del 1.6% e 1.7% rispettivamente per bufala e bovina.

Figura 7. LeastSquareMeans relative all'effetto dello stadio di lattazione



Anche nel caso delle dCYs non sono state evidenziate delle differenze significative, nonostante sia stata osservata, invece, una significatività dell'effetto per la produzione di latte giornaliera: in questo caso abbiamo constatato un aumento della produzione di latte dalle primipare alle terzipare ed una successiva diminuzione per vacche con ulteriori parti.

L'effetto della caldaia è stato inserito per correggere i risultati ottenuti da una possibile variazione dovuta alla micro-caldaia utilizzata. Come possiamo vedere dalla tabella 8, per nessuna delle 3 tipologie di rese l'effetto è risultato significativo indicando un'ottima riproducibilità della metodica per la determinazione di questi caratteri. Ovviamente lo stesso risultato è stato ottenuto per le dCYs. Anche nel caso dei recuperi, in generale, non abbiamo osservato la significatività dell'effetto caldaia: solo per REC_{PROTEIN}, la caldaia è risultata essere leggermente significativa ($P < 0.05$).

Tabella 9. LeastSquareMeans relative all'effetto dell'ordine di parto

Variabile	Ordine di parto				
	1	2	3	4	≥5
N. di bufale campionate	40	28	33	28	37
Cheese Yields, %					
%CY _{CURD}	27.5	26.8	25.6	25.8	26.2
%CY _{SOLIDS}	13.8	13.5	12.9	13.1	13.3
%CY _{WATER}	13.5	13.4	12.7	12.9	13.0
Cheese Recoveries, %					
REC _{PROTEIN}	85.9	85.3	85.2	84.4	84.3
REC _{FAT}	94.6	93.8	94.0	93.6	93.2
REC _{SOLIDS}	69.9	68.2	68.0	67.8	68.3
REC _{ENERGY}	81.8	80.8	80.1	80.3	80.7
Production traits, kg×d ⁻¹					
dMY	6.53	6.74	8.22	6.88	7.69
dCY _{CURD}	1.82	1.83	1.99	1.80	1.92
dCY _{SOLIDS}	0.94	0.91	0.99	0.90	0.96
dCY _{WATER}	0.89	0.91	0.99	0.89	0.95

Per quanto riguarda l'effetto della produzione del latte in tabella 8 sono presenti i risultati relativi all'ANOVA mentre in tabella 10 sono riportate le LS-MEANS. La produzione di latte non è risultata significativa per le tre tipologie di rese. Bisogna comunque sottolineare che

abbiamo osservato i valori più alti di questi caratteri per la classe di dMY più bassa (<3.6kg/d) mentre i valori più bassi sono stati trovati per la classe di produzione più alta (>11.6). in particolare è stata osservata una differenza del 4% circa tra queste due classi per la resa in cagliata. Questo indica probabilmente che con l'aumento delle osservazioni potrebbe essere osservato un trend più chiaro per questa fonte di variazione.

Per quanto riguarda i recuperi dei nutrienti del latte nella cagliata, questo effetto non è risultato significativo solamente per il REC_{FAT}. Nel caso del recupero della proteina, è stato evidenziato un tendenziale aumento del carattere con l'aumento della produzione di latte. Nel caso del recupero di sostanza secca, e quindi di energia, invece, abbiamo osservato un trend tendenzialmente opposto. Questo risultato, ovviamente, è la conseguenza del fatto che la materia utile del latte per la formazione del formaggio è data sia dalla proteina ma anche dal grasso, il quale, nonostante non prenda parte attivamente al processo di coagulazione rappresenta un fattore importante per la determinazione dell'efficienza della caseificazione

Tabella 10. Effetto della produzione giornaliera di latte sulle variabili che descrivono l'efficienza del processo di caseificazione

Variabile	dMY, kg×d ⁻¹						
	<3.6	3.6-5.1	5.2-6.7	6.8-8.3	8.4-9.9	10.0-11.6	>11.6
N. di bufale campionate	15	24	35	25	19	20	23
Cheese Yields, %							
%CY _{CURD}	28.5	26.1	27.3	26.1	26.3	25.4	24.8
%CY _{SOLIDS}	13.8	12.9	13.9	13.3	13.5	13.2	12.6
%CY _{WATER}	14.3	13.1	13.5	12.9	13.0	12.4	12.5
Cheese Recoveries, %							
REC _{PROTEIN}	79.0	82.9	85.3	86.7	87.9	86.0	87.2
REC _{FAT}	94.0	94.6	93.6	93.1	93.7	96.0	91.9
REC _{SOLIDS}	71.3	67.6	69.1	68.7	68.4	68.0	66.1
REC _{ENERGY}	83.8	79.9	81.3	80.2	81.0	79.7	79.4

Infine, per quanto riguarda l'allevamento, abbiamo osservato valori più alti di percentuale di varianza del carattere dovuta a questo effetto per il %CY_{WATER} (0.27), il REC_{FAT} (0.44), e il REC_{PROTEIN} (0.27). In generale, comunque, abbiamo osservato dei valori standard di variabilità spiegata dall'effetto allevamento; in particolare sono stati ottenuti dei valori simili per le 3 tipologie di dCYs (circa il 20%); mentre, nel caso di %CY_{SOLIDS} e REC_{SOLIDS} sono stati

evidenziati dei valori molto bassi (rispettivamente di 0.09 e 0.03).nello studio di Cipolat-Gotet et al. (2013) sono stati osservati dei valori di varianza spiegata dall'effetto allevamento meno variabili: il più basso valore è stato evidenziato per il REC_{ENERGY} con 0.21; nel caso delle 3dCYs invece sono stati osservati dei valori attorno al 50% di varianza spiegata.

5 Conclusioni

Il presente studio ha voluto caratterizzare l'efficienza del processo di caseificazione del latte individuale bufalino. La metodica messa a punto è risultata riproducibile per i caratteri oggetto dello studio.

Per quanto riguarda i risultati ottenuti, il latte di bufala ha evidenziato un'ottima attitudine alla caseificazione sia in termini di resa casearia e quindi di kg di formaggio prodotto sia per i quantitativi dei nutrienti del latte recuperati nella cagliata. I risultati, inoltre, hanno evidenziato una migliore attitudine alla caseificazione del latte di bufala rispetto a quello della bovina.

Sulla base di queste affermazioni, la bufala si pone come valida alternativa all'allevamento della vacca da latte. Sono noti gli aspetti positivi di questa tipologia di produzione zootecnica rispetto la più diffusa zootecnia bovina: i costi di produzione (alimentazione ecc..) a livello di allevamento sono minori nella bufala rispetto la vacca da latte; il latte di bufala non è soggetto alle restrizioni dovute alle quote latte; la domanda dei prodotti di origine bufalina nel mercato lattiero-caseario è in aumento. A questi aspetti si aggiungono quelli presentati in questo studio: migliore resa casearia dovuta ad una migliore resa in sostanza secca ed acqua. Miglior recupero di proteina, grasso e sostanza secca che sottolineano la maggiore efficienza di passaggio dal latte alla cagliata dei singoli nutrienti.

Fra gli obiettivi del presente studio vi era quello di testare gli effetti dello stadio produttivo dell'animale sui caratteri di attitudine casearia. I risultati ottenuti evidenziano una maggiore importanza dello stadio di lattazione rispetto all'ordine di parto degli animali. In particolare è stato osservato un miglioramento della resa casearia per animali giunti alla parte finale della lattazione. Per quanto riguarda la produzione di latte, questo effetto ha evidenziato dei risultati meno attesi come ad esempio nel caso del recupero della proteina.

Per ottenere risultati più accurati, si suggeriscono ulteriori campionamenti (meglio in altri allevamenti) per evidenziare meglio le fonti di variazione considerate.

I caratteri definiti in questo studio sono di fondamentale importanza per la definizione dell'attitudine casearia del latte bufalino. La resa casearia rappresenta un carattere che dovrebbe essere utilizzato sia per il monitoraggio della qualità del latte delle bufale sia per il suo eventuale utilizzo nei programmi di selezione genetica. Ovviamente non è possibile effettuare questo tipo di raccolta dati a livello di popolazione, in quanto per la determinazione di questi caratteri è necessaria la caseificazione del latte a livello individuale: le lunghe tempistiche di analisi non permettono questo tipo di approccio. Si rendono necessari degli studi che vadano a proporre dei metodi di stima indiretta di questi caratteri (tecniche MIR), riducendo le tempistiche ed i costi di analisi.

6 Bibliografia

ANASB 2013. A.N.A.S.B. Associazione Nazionale Allevatori Specie Bufalina. Tratto da www.anasb.it: <http://www.anasb.it/>

Annibaldi, S., Ferri, F., & Morra, R. 1977. Nuovi orientamenti nella valutazione tecnica del latte: Tipizzazione lattodinamografica. *Scienza e tecnica lattiero casearia* 28.

Balasini, D. (2000). *Zootecnia applicata. Bovini e bufali*. Edagricole Scolastico.

Banks, J. M. 2007. Cheese yield. Pages XX–XX in *Cheese Problems Solved*. P. L. H. McSweeney, ed. Woodhead Publishing Ltd., Cambridge, UK.

Banks, J. M., L. J. Clapperton, D. D. Muir, & Girdler A. K. 1986. The influence of diet and breed of cow on the efficiency of conversion of milk constituents to curd in cheese manufacture. *J. Sci. Food Agric.* 37, 461–468.

Bartocci, S., & Terramoccia, S. 2010. Variations in the Production, Qualitative Characteristics and Coagulation Parameters of the Milk of the Riverine Buffalo Determined by the Energy/Protein Content of the Diet. *Asian - Australasian Journal of Animal Sciences* , 23 (9), 1166-1173.

Bittante, G., C. Cipolat-Gotet, & Cecchinato A. 2013. Genetic analysis of different measures of cheese-yield and nutrients recovery from individual bovine milk and their genetic relationships with milk yield and composition. *J. Dairy Sci.* 96, <http://dx.doi.org/10.3168/jds.2012-6517>

Bonfatti, V., Giantin, M., Gervaso, M., Coletta, A., Dacasto, M., & Carnier, P. 2012. Effect of CSN1S1-CSN3 (α 1-k-casein) on milk production traits and milk coagulation properties in Mediterranean water buffalo. *Journal of Dairy Science* , 95 (6), 3435-3443.

Cecchinato, A., Penasa, M., Cipolat-Gotet, C., De Marchi, M., & Bittante, G. 2012. Short communication: Factors affecting coagulation properties of Mediterranean buffalo milk. *J. Dairy Sci.* 95 (4), 1709-1713.

- Cipolat-Gotet, C., A. Cecchinato, M. De Marchi, & Bittante G. 2013. Factors affecting variation of different measures of cheese yield and milk nutrient recovery from an individual model cheese-manufacturing process. *J. Dairy Sci.* 96, <http://dx.doi.org/10.3168/jds.2012-6516>
- Cologna, N., R. Dal Zotto, M. Penasa, L. Gallo, & Bittante G. 2009. A laboratory micro-manufacturing method for assessing individual cheese yield. *Ital. J. Anim. Sci.* 8(Suppl. 2), 393–395.
- Correale, E., & Citro, A. 1995. *Allevamento del bufalo*. Edagricole.
- De Marchi, M., G. Bittante, R. Dal Zotto, C. Dalvit, & Cassandro M. 2008. Effect of Holstein Friesian and Brown Swiss breeds on quality of milk and cheese. *J. Dairy Sci.* 91, 4092–4102.
- De Marchi, M., C. C. Fagan, C. P. O'Donnell, A. Cecchinato, R. Dal Zotto, M. Cassandro, M. Penasa, & Bittante G. 2009. Prediction of coagulation properties, titratable acidity, and pH of bovine milk using mid-infrared spectroscopy. *J. Dairy Sci.* 92, 423–432.
- Hafez E. S. & Hafez B. 2010. *Riproduzione negli animali d'allevamento*, www.libreriauniversitaria.it.
- Hicks, C. L., J. O'Leary, & Langlois B. E. 1981. Equipment and procedure for manufacturing laboratory cheese curd. *J. Dairy Sci.* 64, 523–525.
- Hurtaud, C., H. Rulquin, M. Delaite, & Vèritè R. 1995. Appréciation de l'aptitude fromagère des laits de vaches individuels. Tests d'aptitude fromagère et rendement fromager de fabrication. *Ann. Zootech.* 44, 385–398.
- I.S.M.E.A. Istituto di servizio per il mercato agricolo alimentare. (s.d.).
- Lucey, J., and J. Kelly. 1994. Cheese yield. *J. Dairy Technol.* 47, 1–14.
- Malacarne, M., A. Summer, E. Fossa, P. Formaggioni, P. Franceschi, M. Pecorari, & Mariani P. 2006. Composition, coagulation properties and Parmigiano-Reggiano cheese yield of Italian Brown and Italian Friesian herd milks. *J. Dairy Res.* 73, 171–177.

Mincione, B., Spagna Musso, S., Di Matteo, M., De Franciscis, G., & Intrieri, F. 1982. Valutazione dell'attitudine alla coagulazione del latte di bufala a mezzo della lattodinamografia. In A. P. Caserta (A cura di), Atti del Convegno. Secondo Convegno Internazionale sull'allevamento bufalino nel mondo. 482-505.

NRC. 2001 Nutrient Requirements of Dairy Cattle. 7th rev. ed. Natl. Acad. Press, Washington, DC.

Othmane, M. H., J. A. Carriedo, L. F. de la Fuente Crespo, & San Primitivo F. 2002. An individual laboratory cheese-making method for selection in dairy ewes. *Small Rumin. Res.* 45, 67–73.

Politis, I., and K. F. Ng-Kwai-Hang. 1988. Association between somatic cell count of milk and cheese-yielding capacity. *J. Dairy Sci.* 71, 1720–1727.

Potena, A., Bove, D., Cocca, T., Haubner, T., & Zicarelli, L. 2001. Andamento di alcuni componenti del latte di bufala in funzione della distanza dal parto: risultati preliminari. In C. Campanile, G. Campanile, R. Di Paolo, F. Infascelli, & L. Zicarelli, Atti 1° Congresso Nazionale sull'Allevamento del Bufalo.

Tiezzi, F., Cecchinato, A., De Marchi, M., Gallo, L., & Bittante, G. 2009. Characterization of buffalo production of northeast of Italy. *Ita. J. Animal Sci.* , 8, 160-162.

Wedholm, A., L. B. Larsen, H. Lindmark-Mansson, A. H. Karlsson, & Andren A. 2006. Effect of protein composition on the cheesemaking properties of milk from individual dairy cows. *J. Dairy Sci.* 89, 3296–3305.

Zicarelli, L. 2001. Evoluzione dell'allevamento bufalino in Italia. In C. Campanile, G. Campanile, R. Di Paolo, F. Infascelli, & L. Zicarelli, Atti 1° Congresso Nazionale sull'Allevamento del Bufalo.

Zicarelli, L., A. Potena, M. Di Rubbio, A. Coletta, C. Caso, B. Gasparrini, & Di Palo R. 2007. Estimation of buffalo cheese yield by using the chemical-physical parameters of the milk. *Ital. J. Anim. Sci.* 6 (Suppl. 2), 1100–1103.

