



UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI PADOVA

Dipartimento di Agronomia Animali Alimenti Risorse Naturali e
Ambiente

CORSO DI LAUREA IN SCIENZE E TECNOLOGIE AGRARIE

Effetti di ordine di parto, giorni di lattazione e produzione
sul profilo minerale del latte in bovine di razza frisona

Relatore
Dr.ssa Diana Giannuzzi
Correlatore
Dott. Alessandro Toscano

Laureando
Mattia Angelo Berno
Matricola n. 2006365

ANNO ACCADEMICO 2022/2023

RIASSUNTO

Il latte vaccino è un alimento completo per l'alimentazione dell'uomo, indispensabile fin dalle sue prime fasi vita; infatti, racchiude al suo interno l'intera sfera di molecole essenziali per i diversi processi del metabolismo, come proteine, vitamine, glucidi, lipidi e sali minerali. Il rapporto tra i vari componenti e la loro quantità all'interno del latte non è stabile e può variare in funzione di diversi fattori come la razza del bovino, il clima, l'alimentazione, le tecniche di gestione della stalla e l'individualità dell'animale. Tutti questi fattori determinano la quantità ma soprattutto la composizione e quindi qualità del latte prodotto dal singolo animale. In questo progetto di tesi sono state campionate, durante il periodo di lattazione, 1013 vacche di razza frisona facenti parte di cinque diversi allevamenti, situati in Veneto e in Emilia-Romagna. Tutti i capi venivano munti due volte al giorno e l'alimentazione era basata su una razione unifeed. I campionamenti del latte sono stati eseguiti una singola volta per animale. Sono stati campionati solo gli animali che risultavano in ottimo stato di salute e non presentavano patologie evidenti o erano sottoposti a cure farmaceutiche. Per ciascun campione prelevato è stata eseguita un'analisi quantitativa del profilo minerale del latte utilizzando uno Spectro Arcos EOP ICP-OES. L'analisi ha permesso l'identificazione e quantificazione di 16 elementi minerali, classificati in tre macrocategorie: macrominerali (Ca, P, Mg, K, Na, S), microminerali (Cu, Fe, Mn, Zn) e contaminanti (Al, B, Ba, Cr, Sr, Ti). L'obiettivo del presente progetto di tesi è stato quello di studiare le associazioni del profilo minerale del latte con alcune fonti di variazione individuale, in particolare l'ordine di parto, i giorni di lattazione e la produzione totale. I dati sono stati poi elaborati con un modello lineare misto considerando come effetti fissi l'ordine di parto, i giorni di lattazione e la produzione totale e come effetto casuale la data/allevamento.

Le associazioni sono state considerate significative con $P < 0,05$. In particolare, si è evidenziata un'associazione lineare negativa tra ordine di parto e P, Mg, K e S. Al contrario, tra l'ordine di parto e il Na si è osservata una relazione positiva, mentre il Ca ha mostrato un andamento quadratico. Tra la produzione e i macrominerali, eccetto il K, si è evidenziata un'associazione lineare negativa. In quest'ultimo minerale invece si è notato un aumento al crescere della produzione. Si è riscontrata un'associazione lineare negativa tra i giorni di lattazione e P e K e positiva con il Mg, S e Na. Considerando i microminerali, Zn, B, Ba, Sr e Ti evidenziano tendenzialmente un'associazione lineare negativa con l'ordine di parto., Le associazioni tra giorni di lattazione e Cu, Sr, B, Ba e Ti sono state linearmente negative, al contrario dell'associazione osservata con Zn e Mn che è risultata positiva. Queste relazioni possono essere spiegate andando a studiare la fisiologia dell'animale e in

alcuni casi ci permettono di riportare le variazioni dei minerali anche allo stato di salute della bovina, fornendo così un ulteriore strumento nella prevenzione e la gestione della mandria.

INDICE

1- INTRODUZIONE	1
1.1 Il settore lattiero-caseario	1
1.2 La razza frisona	3
1.3 Il latte e la sua produzione.....	5
1.4 La composizione del latte.....	7
1.5 La qualità del latte	9
1.6 I minerali	10
1.6.1 I minerali nel latte: perché sono così importanti?.....	11
1.6.2 I macrominerali.....	13
➤ Il calcio	13
➤ Il fosforo	15
➤ Il sodio	16
➤ Il potassio.....	17
➤ Lo zolfo.....	18
➤ Il magnesio.....	19
1.6.3 I microminerali	20
I microminerali essenziali.....	21
➤ Lo zinco	21
➤ Il ferro	21
➤ Il rame	22
➤ Il manganese	23
I microminerali ambientali	24
➤ L'alluminio	24
➤ Il cromo.....	25
➤ Lo stronzio	25
➤ Il boro.....	26
➤ Il bario.....	26
➤ Il titanio.....	27
2- SCOPO DEL LAVORO	28
3- MATERIALI E METODI	29
3.1 Campionamento degli animali.....	29
3.2 Campionamento del latte.....	29
3.3 Preparazione del campione e analisi del latte.....	30

3.4 Analisi statistica	31
3.4.1 Selezione dei dati.....	31
3.4.2 Modello statistico.....	32
4- RISULTATI.....	33
4.1 Analisi descrittiva del profilo minerale	33
4.2 Descrizione e risultati dell'analisi della varianza.....	34
4.2.1 Descrizione effetto data/allevamento	35
4.2.2 Descrizione dell'effetto ordine di parto, giorni di lattazione e produzione	35
5- DISCUSSIONE	41
5.1 Caratterizzazione del campione di animali e latte analizzato.....	41
5.2 Caratterizzazione del profilo minerale	42
5.3 Effetto data e allevamento	44
5.4 Effetto ordine di parto, giorni di lattazione e produzione	45
6- CONCLUSIONI	49
BIBLIOGRAFIA e SITOGRAFIA	50
RINGRAZIAMENTI	60
APPENDICE.....	61

1- INTRODUZIONE

1.1 Il settore lattiero-caseario

Il settore lattiero-caseario è una voce fondamentale del comparto agroalimentare italiano. Infatti, in termini economici questo settore rappresenta il 9% del prodotto lordo vendibile (PLV) del comparto agricolo e fino al 11,5% della PLV dell'industria alimentare (ISMEA, CLAL). Aggiornamento 2020-2021). Il latte che si trova nel mercato deriva dalle principali specie animali dedite a questo tipo di produzione, quali bovini, bufalini, ovini e caprini. I bovini però, con circa il 94% del latte prodotto, rappresentano la specie più importante e di maggior interesse per questo settore.

Il patrimonio zootecnico dei bovini da latte ha una consistenza complessiva pari a 2,7 milioni di capi allevati in circa 25.370 aziende distribuite per gran parte nel nord-Italia (78% circa), più in specifico, per numerosità, in Trentino-Alto Adige, Lombardia, Emilia-Romagna, Veneto e Piemonte. Le consistenze dei capi bovini non hanno subito grosse variazioni nell'ultimo decennio al contrario invece delle aziende che hanno subito una preoccupante riduzione con un tasso di mortalità medio annuo di circa il 3%. Questo alimenta pesantemente il fenomeno di concentrazione delle strutture produttive, con la media aziendale che è passata dai 78 capi/azienda nel 2012 ai 106 capi/azienda del 2021. In oltre la metà degli allevamenti nazionali il numero di capi allevati è modesto e questi rappresentano solo il 10% del patrimonio nazionale bovino. L'80% dei capi invece, sono allevati in grandi aziende da oltre 100 individui che rappresentano meno di un terzo della numerosità totale (Ismea).

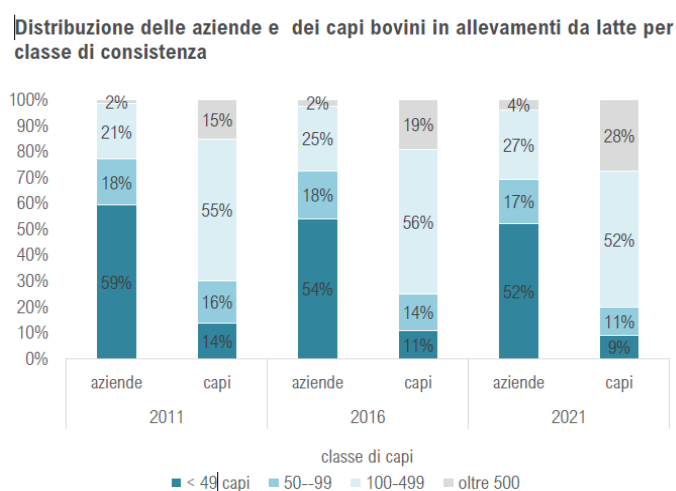


Figura 1 : elaborazioni Ismea su dati BDN-Anagrafe Zootecnica Nazionale

La filiera lattiero-casearia italiana è caratterizzata dalla grande produzione di prodotti di alta qualità. Infatti, quasi la metà del latte vaccino nazionale è destinato a produzioni con marchio di origine. Un'altra importante produzione è quella del latte alimentare fresco che copre l'8% della produzione nazionale; la restante quota unita alle importazioni è destinata alla produzione di formaggi e lavorati senza indicazione di origine (IG). La produzione di prodotti di qualità nell'ambito lattiero-caseario è un importante motore per il settore agroalimentare italiano grazie alla possibilità di mettere sul mercato prodotti con 56 Indicazioni Geografiche (derivanti da latte vaccino, ovi-caprino, bufalino e misti) che alimentano l'economia con 4,18 miliardi di euro alla produzione (Ismea).

La produzione italiana non è destinata solo all'autoconsumo, ma vede un importante interesse anche nell'export considerando che l'Italia è il terzo esportatore mondiale di formaggi e latticini (Ismea). Grazie alla storica qualità nella produzione e all'ottima reputazione, i prodotti nazionali sono molto apprezzati all'estero fin tanto da occupare 8 dei primi 10 posti dei 50 migliori formaggi mondiali secondo TasteAtlas.

Storicamente il comparto latte italiano è un settore parzialmente dipendente dalla produzione estera con il 20% o più di latte importato. Con la fine del regime quote latte che bloccava gli aumenti di produzione e con la recente contrazione della domanda interna, il grado di autoapprovvigionamento è significativamente aumentato arrivando all'88% del 2021.

Questo settore, complici i ridotti margini di manovra, la situazione climatica e i mercati, è da molti anni in una situazione di stress più o meno profonda. Dopo due anni di forti aumenti della produzione, nel 2022 c'è stata una forte battuta d'arresto per cercare di contenere le perdite a causa degli elevati costi dei fattori produttivi. Ci sono state grosse difficoltà anche nell'approvvigionamento dei mangimi per colpa della crisi idrica che si è abbattuta nel Paese causando la produzione di pochi alimenti per il bestiame e di scarsa qualità. La mancanza di materie prime, decretata in primo luogo dal conflitto tra Ucraina e Russia che ha bloccato le esportazioni e ha gettato le basi per varie speculazioni di mercato, e in secondo luogo dalla siccità che ha dimezzato se non in alcuni casi annullato le produzioni e dall'inflazione, ha portato al più grande aumento dei prezzi da dieci anni a questa parte. Durante il 2022 si sono visti aumenti di prezzi a doppia cifra di tutti i principali cereali utilizzati per l'alimentazione. Ad esempio, è stato riscontrato un +41% per il mais e un +29% per la soia, fino ad arrivare a quasi un +60 % per i fieni. Oltre a questo, gli imprenditori devono far fronte anche ai rincari energetici che hanno fatto innalzare i prezzi fino a oltre il 70% rispetto agli anni precedenti. Tutto ciò è confermato anche dall'indice Ismea (Istituto di Servizi per il Mercato Agricolo Alimentare) per i prezzi dei fattori produttivi che, per quanto riguarda gli allevamenti di bovini da latte, vede un incremento di circa il 25,1% nei primi nove mesi del 2022. Di fronte alla minor quantità di latte

importato dall'estero, sempre in forte competizione con quello interno a causa del minor costo, e all'aumento di tutte le voci di spesa dell'azienda si è riscontrato un eccezionale aumento dei prezzi del latte alla stalla, con il superamento di 57 euro/100 kg come prezzo medio europeo. In Italia a fine 2022 si è raggiunta la soglia dei 60 euro/100 kg con un andamento leggermente a ribasso a inizio 2023. Gli aumenti del prezzo del latte hanno ridotto solo parzialmente il gap che derivava dagli aumenti dei prezzi dei fattori produttivi incidendo perciò, come lo era già precedentemente, nella liquidità delle aziende agricole e nella loro capacità di continuare a produrre.

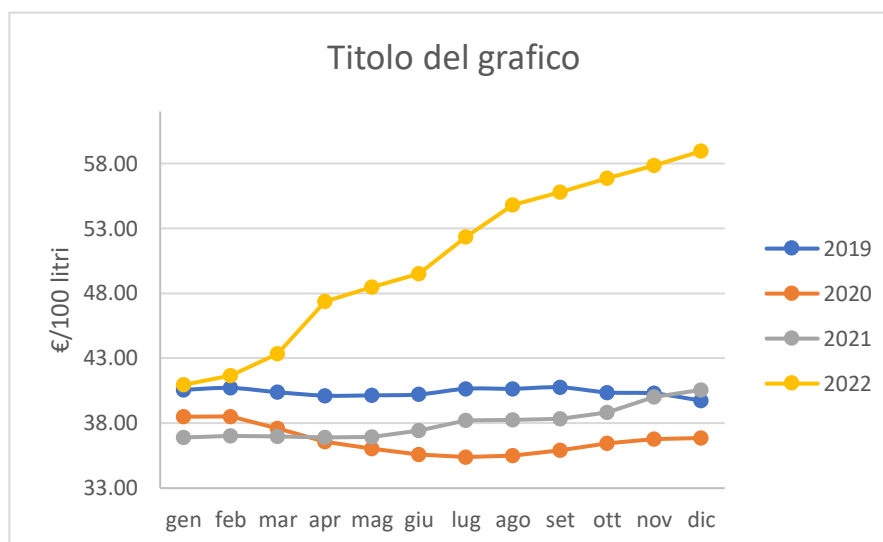


Figura 2: Andamento prezzo medio del latte alla stalla (Ismea, 2022)

1.2 La razza frisona

La frisona è una delle razze bovine più conosciute a livello mondiale e la razza che è stata adattata e selezionata maggiormente per un'alta produzione di latte (McGuffey & Shirley, 2011). Questi animali sono stati molto ricercati e migliorati per produrre la più alta produzione di latte possibile con il minor dispendio di risorse in termini di ingestione possibili (Buchanan, 2002).

La razza frisona nasce nei Paesi Bassi circa 2000 anni fa dall'incrocio della razza a mantello bianco proveniente dalla regione della Frisia, attuale Olanda, con la razza a mantello nero proveniente dalla regione della Batavia, attuale Germania (Melissa Elischer, 2014; Holstein Association USA). Da questo incrocio si ottenne una razza, conosciuta anche come "Holstein-Friesian", dal mantello bianco e nero che negli anni migliorò geneticamente per ottenere un'alta produzione ed efficienza. Verso la metà del 1800, Winthrop Chenery, un *breeder* del Massachusetts, imbarcò una vacca olandese in una nave cargo come fonte di alimentazione per il personale di bordo durante il viaggio trans-atlantico

verso l'America. Restando molto soddisfatto della produzione dell'animale negli anni a seguire importò altri animali negli USA creando di fatto le basi per lo sviluppo della razza negli Stati Uniti. In Italia lo sviluppo della razza si ebbe grazie all'allevamento della "Bonifica di Torre di Pietra" (Roma) che nel 1929 acquistò negli USA, nell'asta della Carnation Milk Farm di Seattle, un toro (Carnation Producer) che dimostrò di avere un'ottima genetica diventando così il capostipite dell'attuale Frisona Italiana. In seguito, il pool genetico della Frisona in Italia fu sviluppato e migliorato con altri tori, soprattutto provenienti da oltre oceano. Negli anni questa razza soppiantò quella più allevata dell'epoca, la razza Bruna, e alla fine degli '50 fu creata l'Associazione Nazionale di Allevatori di Bovini di Razza Frisona Italiana, che in seguito inglobò anche la razza Bruna e la Jersey (ANAFIBJ).

L'ANAFIBJ, come altre associazioni di razza, ha selezionato negli anni l'animale in modo da rispettare specifiche caratteristiche sempre più attinenti alla produzione o alle volontà del mercato come, ad esempio, il contenuto di proteina o grasso. Nel complesso la frisona presenta una grande taglia che sulla femmina adulta al garrese arriva a 130-150 cm con un peso medio di 650 kg. La tendenza attuale è quella di ridurre un po' la taglia per ridurre l'ingestione e migliorare l'indice di conversione. La vacca frisona ha una struttura con poco muscolo di copertura e angolosa, caratteristica strettamente associata alla produzione. Oltre alla poca presenza di muscolo, le ossa sono robuste ma sottili, così come la testa e la pelle. Nella frisona la mammella deve essere sostenuta da legamenti forti e deve presentare capezzoli posizionati centralmente al quarto e ben in appiombato. Il mantello è pezzato nero ma anche il mantello pezzato rosso, meno solito ma comunque presente, può essere iscritto al libro genealogico.

Attraverso i controlli funzionali, che sono svolti periodicamente all'interno delle aziende, l'associazione rileva tutta una serie di dati sia di carattere generale come lo stato dell'animale, le fecondazioni, le mastiti, e sia di carattere più incentrato alla produzione come la quantità prodotta dal singolo animale, il contenuto di grasso, di proteine e di cellule somatiche. Secondo le ultime considerazioni e rilevazioni statistiche del 2022 di ANAFIBJ, la produzione in lattazione per animale è costantemente aumentata arrivando fino a 10.710 kg di latte. La selezione di caratteri vocati all'alta produzione va in senso opposto a quelli che riguardano la qualità; quindi, più latte viene prodotto e meno qualità presenta. Questo andamento è stato notato in modo molto chiaro negli anni anche se con le recenti tecniche di miglioramento si è riusciti ad oltrepassare questo ostacolo e dal 2015 si nota una crescita abbastanza lineare che ha portato nel latte a un 3,89% di grasso e 3,37% di proteine.

1.3 Il latte e la sua produzione

Il latte è una sostanza liquida che viene prodotta e secreta dalla ghiandola mammaria delle femmine appartenenti alla classe dei mammiferi. Questo prodotto ha il compito di nutrire in modo completo il neonato della specie nelle prime fasi di vita (Fox & McSweeney, 1998).

Quando si parla di “latte alimentare”, quindi destinato al consumo umano, ci si deve riferire al prodotto derivante da una mungitura regolare, ininterrotta e completa della mammella di animali con opportuno stato di salute. Se non chiaramente specificato il latte deriva dalla mungitura delle vacche (R.D. 9.5.1929, art. 15 e successive modifiche).

I costituenti del latte sono poco sintetizzati ex novo dalla mammella, anzi, la maggior parte derivano dalla sintesi di molecole trasportate con il sangue attraverso la membrana cellulare basale (Thompson et al., 2009). Come descritto da Fox & McSweeney, 1998, gli elementi che compongono questo liquido sono sintetizzati da un epitelio costituito da un monostrato di cellule, chiamate cellule lattifere, che si chiude parzialmente su sé stesso formando un organello a forma di pera chiamato alveolo. Quest’ultimo è collegato tramite dotti ad altre strutture simili a formare il lobulo. A loro volta, più lobuli sono raggruppati assieme ma tenuti divisi da tessuto connettivo a formare il lobo, struttura che si collega attraverso un dotto lattifero maggiore alla cisterna del latte, in stretta connessione con la cisterna del capezzolo. Il latte secreto dalle cellule lattifere viene riversato nel lume dell’alveolo e attraverso i vari canali scende fino al capezzolo che, se sollecitato dall’animale o da una mungitrice meccanica, cede il prodotto all’esterno attraverso lo sfintere.

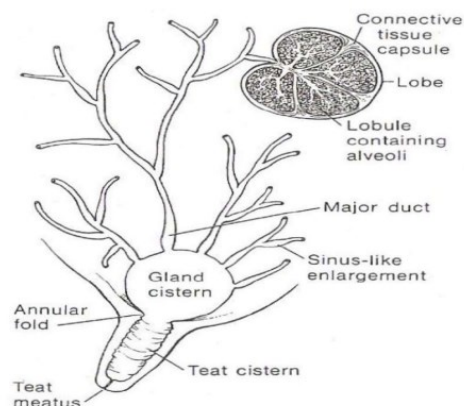


Figura 3: rappresentazione di un sistema di dotti in un quarto di mammella bovina (Schmidt, 1971)

Gli ormoni nella vacca, come in tutti gli esseri viventi, giocano un ruolo fondamentale nella regolazione dei vari processi. Come descritto da (Svennersten-Sjaunja & Olsson, 2005), agiscono in maniera diretta sia nella fase di sintesi che nella fase di eiezione. Nella prima ha un ruolo

fondamentale la prolattina, ormone che stimola il metabolismo delle cellule secernenti e mantiene attiva la sintesi del latte, mentre la fase di eiezione è regolata dall'ormone ossitocina. L'80% del latte è presente nella parte alta della mammella e per estrarlo al momento della mungitura o del succhio la forza di gravità non basta. Una serie di stimoli, come ad esempio il vitello che si accinge a poppare, il rumore della sala di mungitura oppure massaggi pre-mungitura, vengono percepiti dall'organismo che tramite un processo neuroendocrino mette in circolo l'ossitocina. Questo ormone stimola la contrazione del tessuto mioepiteliale attorno all'alveolo consentendo lo svuotamento del lume.

La produzione di latte da parte di una bovina inizia alcuni giorni prima del parto e continua fino al momento dell'asciutta. Durante questo periodo, chiamato lattazione, la quantità di latte prodotta non è costante ma subisce oscillazioni che possono essere descritte sommariamente attraverso la curva di lattazione (in figura).

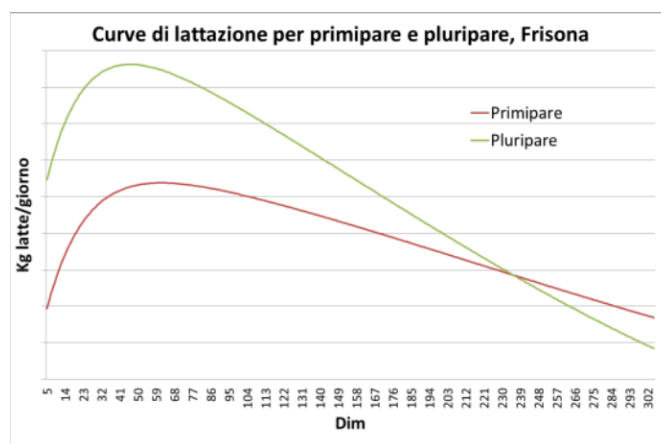


Figura 4: curva di lattazione delle bovine (AIA)

Come descritto da Alessandro Fantini (2012) la curva ha una fase iniziale di incremento, un picco che si attesta attorno ai 60 gg ed una fase di calo fino al termine di lattazione. La forma della curva varia da individuo a individuo a causa di diversi fattori come lo stato di salute, lo stato energetico, la genetica, l'età, il periodo del parto e la durata dell'asciutta. Il momento in cui avviene il picco e la persistenza della curva, cioè la capacità di mantenere la produzione senza calare drasticamente, sono influenzati molto anche dal numero di parti dell'animale. Se la bovina è primipara raggiungerà il massimo di lattazione più tardi, con una minore intensità ma con una persistenza maggiore rispetto ad una pluripara. La quantità di latte prodotto da un animale in una lattazione è data dall'area che sottoscrive la curva nel suo andamento, cioè maggiore sarà la quantità di latte prodotto al picco e maggiore sarà la produzione lungo tutta la curva. La quantità è poi influenzata da altri fattori come la persistenza e la durata di lattazione. Fisiologicamente l'animale varia la sua produzione in base alle esigenze che il vitello necessita durante l'accrescimento. La massima produzione viene concentrata

nelle prime settimane, periodo nel quale i bisogni del vitello sono maggiori per poi calare lentamente favorendo così l'assunzione di alimenti fibrosi e lo sviluppo completo della sua funzione ruminale.

1.4 La composizione del latte

Il latte è un liquido molto complesso che contiene al suo interno centinaia di molecole diverse (Thompson et al., 2009). Considerando i macronutrienti, il latte bovino è composto da acqua (85%-87%), grasso (3,8-5,5%), proteine (2,9-3,5%) e carboidrati (circa 5%). Oltre a quest'ultimi appena elencati, nel latte sono presenti i micronutrienti che all'interno della componente bioattiva si presentano come vitamine, minerali, ammine, acidi organici, nucleotidi, oligosaccaridi e immunoglobuline (Foroutan et al., 2019). All'interno del latte i vari componenti si trovano in tre fasi o stati diversi: uno stato di soluzione costituito dal lattosio, sali organici e inorganici, vitamine e altre piccole molecole disciolte in acqua; uno stato di dispersione colloidale dove sono presenti le proteine e altre molecole colloidali di grandi dimensioni; e uno stato di emulsione formato dalle micelle di grasso (Fox & McSweeney, 1998).

	Water	Fat	Protein	Lactose	Ash
Average, %	86.6	4.1	3.6	5.0	0.7
Range, average %	84.5–87.7	3.4–5.1	3.3–3.9	4.9–5.0	0.68–0.74

Source: Swaisgood (1996).

Figura 5: composizione media del latte bovino (Swaisgood, 1996)

Come riportato da diversi autori (Charles Alais, 2000; Foroutan et al., 2019; Fox & McSweeney, 1998; Svennersten-Sjaunja & Olsson, 2005; Thompson et al., 2009) i nutrienti del latte possono essere divisi in:

- **Acqua:** è la componente principale di questo prodotto e una parte fondamentale perché agendo come solvente mantiene un certo grado di fluidità al mezzo, altrimenti fisiologicamente difficile per la vacca da trattare.
- **Glucidi:** è il costituente maggiore del residuo secco del latte ed è costituito per la maggior parte (95%) da lattosio, che è la componente più semplice e costante all'interno degli zuccheri. Questa molecola è un disaccaride estremamente raro in natura al di fuori del latte e viene sintetizzato dalla vacca a partire da glucosio e galattosio.
- **Lipidi:** sono costituiti per circa il 98% da trigliceridi e da altre frazioni minori come di- e monogliceridi, fosfolipidi e colesterolo. I grassi sono una componente molto importante perché sono i maggiori apportatori di energia (9 kcal/g), fungono da *carrier* per le vitamine liposolubili e sono una ricca fonte di acidi grassi (anche acidi grassi essenziali che non

vengono sintetizzati dall'organismo come l'acido linoleico). Questi sono responsabili anche dei sapori e odori caratteristici del latte.

- Sostanze azotate: il 95% dell'azoto presente nel latte si trova sotto forma di proteine, le quali sono essenziali per la vita del vitello, soprattutto nelle prime fasi perché sono la fonte primaria, se non unica, di amminoacidi essenziali. Nel primo latte prodotto dall'animale dopo il parto, il colostro, un'importante frazione di proteine è costituita dalle immunoglobuline che hanno il compito di costruire le difese immunitarie del vitello. All'interno delle proteine si possono distinguere due frazioni in base alla loro solubilità a pH pari a 4,6: la frazione che a questo valore di pH è insolubile è chiamata caseina e rappresenta circa l'80% di tutte le proteine presenti, la restante parte è solubile ed è costituita dalle sieroproteine.
- Vitamine: il latte di vacca è un'importante fonte di queste molecole, in particolare vi si trovano molte vitamine del gruppo B (fondamentali per un corretto regime alimentare nella dieta umana) tra cui la vitamina B₂ o riboflavina, responsabile del colore verdino-giallo del siero di latte. Altre vitamine interessanti sono la vitamina A e i carotenoidi responsabili del colore giallo-arancio del grasso, la vitamina E o tocoferolo che è un importante antiossidante e la vitamina C o acido ascorbico rilevante per la sua capacità ossidativa o pro-ossidativa a seconda della concentrazione con cui è presente.
- Enzimi: sono una piccola frazione di tutti i componenti ma sono comunque fondamentali per il sistema proteico del latte. Possono essere sintetizzati dalle cellule secernenti o arrivare nella mammella attraverso il sangue (Gerrit Smit, 2003).
- Ceneri: sono il residuo inorganico che deriva dall'incenerimento del latte ad una temperatura di 500°C per 5 ore. Questa componente non rappresenta perfettamente il contenuto di sali all'interno del liquido perché a questa temperatura molti dei Sali organici vengono ossidati andando persi. I minerali del latte sono formati da circa 20-25 elementi differenti, i più importanti dei quali saranno descritti in modo più approfondito nei prossimi capitoli.

La composizione del latte appena citata non è una componente così costante all'interno del panorama bovino mondiale. Infatti, questa è influenzata da molti fattori che possono modificare sensibilmente le caratteristiche chimiche, fisiche e tecnologiche del prodotto. Durante la trasformazione da parte dell'industria lattiero-casearia il latte può subire vari processi per renderlo più costante possibile, ma variazioni troppo importanti non possono essere corrette. I fattori che influiscono sulla composizione del latte possono dividersi in (Cheung, n.d.; Fox & McSweeney, 1998; Lindmark-Månsson et al., 2003):

- Esogeni: la stagione di parto, l'alimentazione (Kelly et al., 1998; Elgersma et al., 2004), il grado di management aziendale, le condizioni climatiche e la stagione (Lock & Garnsworthy, 2003; Heck et al., 2009);
- Endogeni: la razza dell'animale, la genetica e i vari incroci all'interno della razza (Stoop et al., 2008), la quantità di latte prodotto, l'età e il numero di lattazioni (Stocco et al., 2019), lo stadio di lattazione, lo stato estrale dell'animale o l'eventuale stadio di gestazione, lo stato di salute dell'animale strettamente collegato allo stato infiammatorio della mammella (Safak & Risvanli, 2021; Seegers et al., 2003).

1.5 La qualità del latte

La qualità del latte è un parametro essenziale per il sistema lattiero-caseario nel suo complesso, dalla stalla al consumatore passando per l'industria addetta alla trasformazione. La qualità può essere definita come (Murphy et al., 2016):

- corretto apporto in titoli di grasso e/o proteine;
- assenza di odori e sapori non desiderati;
- assenza di antibiotici o altri farmaci, acqua aggiunta artificialmente o altra forma di adulteranti;
- basso contenuto in cellule somatiche e carica batterica totale.

La qualità del latte è molto ricercata dall'allevatore perché può rappresentare una forma di guadagno; infatti, esistono specifici schemi di pagamento che si basano sul contenuto dei vari costituenti del latte come i titoli, le cellule somatiche e la carica batterica (Murphy et al., 2016). In base agli accordi e alle normative in vigore (L. 16 marzo 1988), la composizione del latte rappresenta un premio o, nei casi più gravi, anche una perdita a livello di guadagno.

La qualità incide sulle caratteristiche nutrizionali del prodotto e sulla capacità di essere lavorato nel modo voluto dall'industria casearia; quindi, sia sulla resa che il latte fornisce nel prodotto lavorato, sia sulle sue proprietà tecnologiche, come la capacità di coagulazione delle micelle caseiniche, la velocità e la quantità di spurgo della cagliata e la lavorabilità di quest'ultima. La quantità di grasso e proteine sono i fattori che principalmente interessano gli aspetti nutrizionali del prodotto ma sono tenuti in considerazione anche perché influenzano la resa casearia. Il contenuto di cellule somatiche e di carica batterica totale influenza invece sia la sicurezza alimentare del prodotto sia la fase di lavorazione del latte (Pantoja et al., 2009; Moradi et al., 2021).

L'assenza di antibiotici è un requisito fondamentale per il latte commercializzato per il consumo umano. Il farmaco negli allevamenti è un modo facile e veloce per combattere le maggiori infezioni che compromettono la salute degli animali, ma un uso non corretto di queste sostanze può portare a rischi per la salute pubblica. La presenza di residui nel latte e il suo successivo utilizzo o consumo possono portare allo sviluppo di antibiotico-resistenze, allo sviluppo e dalla diffusione incontrollata di patogeni resistenti e alla perdita delle proprietà tecnologiche del latte durante la sua trasformazione (Ruegg & Tabone, 2000; Maia Toaldo et al., 2012; Picinin et al., 2017).

1.6 I minerali

I minerali sono elementi chimici che non vengono sintetizzati dall'organismo ma vengono assunti con la dieta e rivestono un ruolo di fondamentale importanza nella vita di ogni essere vivente. Questi sono molto importanti sia per gli aspetti nutrizionali sia per ragioni biochimiche nel metabolismo e partecipano a tutta una serie di funzioni di regolazione e sviluppo del vivente. Questo fa sì che la mancanza di uno o più minerali può essere la causa di varie patologie. Questi elementi svolgono un ruolo essenziale come costituenti di molti tessuti (es. il Ca nelle ossa), aiutano a mantenere il potenziale osmotico di membrana, sono cofattori in molte reazioni e componenti di enzimi e ormoni (NRC,2001; Šimun Zamberlin et al., 2012)(NRC,2001; Šimun Zamberlin et al., 2012). Queste sono solo alcune delle più importanti funzioni che i minerali svolgono nell'organismo.

I minerali possono essere classificati in base ai fabbisogni per l'organismo e possono dividersi in: macro-minerali (Ca, P, Mg, K, Na, Cl, S) che sono presenti in maggior quantità, e microminerali o minerali in tracce (Zn, Fe, Cu, Mn, Al, Sr, B, Ba, Cr, Ti, Se, F, I, Pb, Cd, Co, Mo, As, Ni). Non essendo sintetizzabili dall'organismo, i minerali devono essere assunti dall'animale tramite i foraggi o tramite i mangimi ingeriti. Il contenuto di elementi all'interno dei prodotti di origine vegetale è molto variabile ed è influenzato da molteplici fattori: tipo di coltura, tipo e stato chimico del terreno, stagione, grado di maturazione del vegetale e livello di management sono tra le più importanti cause di variazione (Spears, 2015). Altra importante fonte per l'assunzione da parte dell'animale di minerali è l'acqua di abbeverata. Infatti, quest'ultima può fornire un significativo apporto di nutrienti e coprire una parte di fabbisogni necessari in base a quali elementi vengono presi in considerazione (Al-Nawaiseh & Al-Rabadi, 2018).

I fabbisogni di minerali del bovino variano in funzione dello stadio in cui si trova l'animale. Ad esempio, le quantità richieste durante il periodo di lattazione sono più alte che nel periodo in asciutta. Seguendo quanto riportato nell'ultima edizione di "Nutrient Requirements of Dairy Cattle" (NASEM,

2021), per una corretta formulazione della dieta i fabbisogni possono essere suddivisi in fabbisogni di mantenimento, crescita, gestazione e lattazione.

Al momento della formulazione di una razione deve essere preso seriamente in considerazione il contenuto di minerali all'interno dei vari costituenti per ottimizzare al meglio gli apporti e, in caso di necessità, integrare, come spesso accade, con sali di origine artificiale in modo da soddisfare appieno i vari fabbisogni. Conoscere solo la quantità del nutriente non basta, infatti, molti minerali sono presenti in forme o complessi che non sono biodisponibili per l'organismo e quindi non assorbibili (Spears, 2015). La biodisponibilità di un minerale può essere definita come quella frazione dell'alimento che è assorbita, trasportata e resa fisiologicamente attiva e funzionale per i vari processi. Molto spesso i minerali sono presenti sotto diverse forme chimiche e legati ad altri componenti della materia vegetale come vitamine, proteine, carboidrati. Se il carrier a cui è legato l'elemento è insolubile o difficilmente degradabile come la fibra, questo causa la parziale o totale indisponibilità del minerale che finirà nelle feci come porzione non digeribile. È opportuno conoscere perciò le quantità del nutriente, ma soprattutto la frazione biodisponibile che entrerà poi a far parte di tutti i processi metabolici del vivente.

1.6.1 I minerali nel latte: perché sono così importanti?

Come già ricordato in precedenza, i minerali svolgono importanti funzioni nella regolazione delle funzioni dell'organismo e nella sua composizione primaria.

Nel latte i minerali sono solo una piccola frazione (8-9 g/L) ma rivestono comunque un importante ruolo dal punto di vista nutrizionale (Stocco et al., 2019). Questi si trovano in differenti forme che possono essere legate o meno tra loro o legate ad altre componenti come le proteine. Possono essere presenti nella frazione diffusa come singoli minerali come il sodio, potassio, cloro e una piccola frazione del calcio. Gli ioni possono anche essere associati alle caseine formando molecole più complesse (micelle caseiniche) e questi sono il calcio, il magnesio, il fosfato e il citrato (F. Gaucheron, 2005). Sia nell'alimentazione umana che in quella animale i minerali sono i responsabili dello sviluppo del neonato e del suo accrescimento soprattutto nelle prime fasi di vita. I minerali nel latte influenzano anche le lavorazioni dell'industria lattiero-casearia, più in particolare l'efficienza di produzione e di lavorazione dei vari formaggi (Stocco et al., 2021).

Tanti sono i fattori che possono condizionare la composizione del latte e quindi il suo contenuto in minerali. Da diversi studi è emerso che il contenuto può variare in base alla razza (Manuelian et al.,

2018), all'età, al tipo di nutrizione (Gulati et al., 2018), al numero di parti, alla produzione, ai giorni di lattazione (Stocco et al., 2019) e alla salute della mammella (Nogalska et al., 2020). Tutto questo influenza il valore nutrizionale del prodotto e le proprietà che assume in fase di lavorazione ma può essere soprattutto un importante indicatore di salute dell'animale. Diversi sono gli studi che si sono occupati di mettere in relazione la composizione del latte, che sia grasso, proteina, lattosio e minerali, con lo stato sanitario della mammella (el Zubeir et al., 2005; Batavani, 2007 Summer et al., 2009 Kandeel et al., 2019; Nogalska et al., 2020). La mastite è un'infezione della ghiandola mammaria causata da diverse avversità come batteri, funghi, micoplasmi e alghe (Bradley, 2002). Questa alterazione della mammella è la seconda causa a livello mondiale, dopo l'infertilità, della perdita economica nelle stalle di vacche da latte. La mastite porta ad un'alterazione della composizione e delle proprietà tecnologiche del latte, alla perdita di resa alla produzione, all'aumento di costi dovuti all'uso di antibiotici e alle consulenze del veterinario (Batavani, 2007). Al giorno d'oggi il parametro più comune per il rilevamento della mastite è il numero delle cellule somatiche. Questo rilevamento può essere supportato dalla misurazione della conducibilità e del pH perché lo stato infiammatorio causa un'alterazione della composizione minerale e non-minerale del latte e questo porta alla variazione dei parametri appena citati. Diversi sono i progetti di ricerca in cui viene evidenziato che un evento di mastite clinico o subclinico porta ad una diminuzione del contenuto di diversi minerali come il Ca e il K (Nogalska et al., 2020; Summer et al., 2009b). Altri elementi come il Mg, lo ZN e in particolare il Na tendono ad aumentare in presenza di alte cellule somatiche e quindi in presenza di una mastite.

Il contenuto di minerali, come già riportato in precedenza, non varia solo in base allo stato sanitario della mammella ma anche in base ad altri fattori come l'età, la razza e il mese di lattazione. Per questo motivo le variazioni della composizione del latte possono variare molto e se i valori dei singoli nutrienti sono confrontati con le medie standard ci possono essere differenze sostanziali nei dati forniti. Conoscere in modo dettagliato le variazioni di questi minerali a seconda dello stadio in cui si trova l'animale aiuta a creare modelli di composizione che seguono gli andamenti della vacca, depurando così il dato da interferenze esterne. Con una buona conoscenza di questi minerali si cerca di creare modelli affidabili che riescano a legarsi in modo veritiero ad altri indicatori come quelli dello stato sanitario della mammella.

1.6.2 I macrominerali

I macrominerali sono elementi inorganici che sono richiesti dall'organismo in grammi e sono: Ca, P, Na, Cl, K, Mg e S. Questi svolgono un ruolo fondamentale come componenti strutturali delle ossa, di altri tessuti e nei fluidi del corpo. Sono importanti, inoltre, per regolare il bilancio acido-base, la pressione osmotica, il potenziale di membrana e la trasmissione nervosa (National Research Council (U.S.) Subcommittee on Dairy Cattle Nutrition, 2001).

➤ *Il calcio*

Come ampiamente descritto nell'ultima edizione del *NASEM* (2021), il 98% del Ca presente nell'organismo si trova all'interno delle ossa (e nei denti) dove assieme allo ione fosfato fornisce robustezza e durezza alle ossa. Il restante 2% si trova principalmente nei fluidi extracellulari. Quest'ultima frazione, ossia quella fisiologicamente mobile e attiva, è essenziale per la formazione del tessuto osseo, la trasmissione degli impulsi nervosi, la contrazione dei muscoli scheletrici e di quello cardiaco, la coagulazione del sangue in caso di ferita e conseguente fuoriuscita e come componente del latte. Il calcio intracellulare invece, con una concentrazione pari allo 0,1‰ del Ca extracellulare, è impegnato nell'attività di un elevato numero di enzimi e rappresenta il secondo più importante trasportatore di informazione tra dentro e fuori la cellula.

Nel plasma il Ca è legato per il 40-45% alle proteine e un'altra piccola frazione, il 5%, è presente associata con composti organici, come il citrato, o con composti inorganici. Considerando sempre questa frazione del sangue, il Ca è presente per il 45-50% in forma ionica e solubile, la cui concentrazione nel plasma deve essere mantenuta in modo costante attorno a 1-1,25mM. Questo assicura il normale potenziale elettrico e la conduttività della membrana nervosa e della piastra terminale muscolare. Tutto ciò è regolato da un complesso sistema di omeostasi che mantiene nel range ottimale la concentrazione del Ca nei fluidi extracellulari. Nel momento in cui le perdite di minerale superano la quota che si riesce a mettere in circolo, l'animale entra in uno stato chiamato ipocalcemia. La mancanza di Ca extracellulare causa la perdita della funzione nervosa e muscolare portando la vacca al collasso puerperale, malattia metabolica chiamata anche febbre da latte. La conseguenza dell'ipocalcemia è il decubito forzato dell'animale che nei casi più gravi porta alla morte per arresto cardiaco. L'ipocalcemia è una malattia che si sviluppa nell'immediato post-parto dei mammiferi e nel caso della vacca da latte colpisce il 5% degli animali, e il 50% delle vacche con molti parti possono manifestare condizioni di ipocalcemia subclinica (Goff, 2008). Questa malattia causa diversi disordini nell'animale che portano a una perdita di produttività lungo tutto il periodo di lattazione. L'ipocalcemia può ridurre la motilità ruminale e abomasale incrementando così il rischio

di dislocazione dell'abomaso. Inoltre, può ridurre l'ingestione di sostanza secca implementando così la mobilitazione di grasso corporeo che può causare altre malattie metaboliche come la chetosi. Può infine incrementare anche il rischio di mastite perché la mancanza di Ca riduce la contrazione del muscolo dello sfintere, che ha il compito di chiudere il capezzolo, creando così una situazione di rischio per l'entrata di patogeni. Nelle vacche in lattazione la maggiore perdita di Ca si ha con l'escrezione del latte che rappresenta circa il 50-75% del totale delle perdite. Il minerale perso viene sostituito tramite gli apporti alimentari, tramite traslocazione di quello immagazzinato nelle ossa o attraverso l'azione filtrante dei reni. La quantità di Ca extracellulare è in stretta correlazione con quello contenuto nel plasma. Se il primo diminuisce, anche la concentrazione nel sangue subisce una variazione a ribasso. La ghiandola parotidea tiene costantemente sotto controllo la concentrazione di minerale nel sangue che, se diminuisce troppo produce un ormone chiamato paratormone (PTH). Questa sostanza, una volta in circolo, stimola immediatamente la maggiore mobilitazione di Ca dalle ossa, il maggiore assorbimento nei reni e quindi minori perdite con le urine, e infine incentiva un maggiore assorbimento del minerale nell'intestino.

La maggiore fonte di Ca per una vacca deriva dagli apporti alimentari. Se questi non sono sufficienti, si mobilita il Ca nelle ossa che mantiene quasi nei limiti la concentrazione del minerale. Se però questo processo avviene per un periodo prolungato nel tempo causa un forte indebolimento dello scheletro portando all'osteoporosi. Questa malattia ricorre quando la perdita di Ca dalle ossa supera la quota di deposizione nelle stesse, fenomeno che non ricorre spesso nelle vacche grazie all'accurata gestione dell'alimentazione (Horst, 1986).

Una carenza di calcio nei giovani animali influisce negativamente sulla mineralizzazione delle ossa causando indebolimento e ritardi nella crescita. Negli adulti invece, come già citato, può causare osteoporosi o osteomalacia. Un eccesso di Ca invece non causa particolari patologie anche se è fissato un massimo che è pari a 1,5% dell'ingestione di sostanza secca (NRC, 2005). Superato questo valore si possono riscontrare interferenze con l'assorbimento dei minerali in tracce, soprattutto Zn e Se.

Nel latte il Ca è il minerale che è presente in maggiore quantità (Gaucheron, 2004; Tunick, 1987). La concentrazione all'interno del latte può variare ma si può definire una quantità standard di circa 1200 mg/L. Anche se la dieta dell'animale è gravemente carente come apporto di Ca, l'organismo è in grado di sopperire a questa carenza mantenendo costante la concentrazione del minerale all'interno del latte (Becker et al., 1933).

➤ *Il fosforo*

Tra gli elementi essenziali per l'organismo, il P è tra quelli che rappresenta il maggiore rischio per l'ambiente. Infatti, se rilasciato in natura in quantità troppo elevate, contamina le acque causandone l'eutrofizzazione. Per questo motivo è d'obbligo un'accurata gestione di questo minerale per ottimizzare al meglio le prestazioni e la salute degli animali, ma riducendo al minimo la loro escrezione (NRC, 2001).

Il P è presente all'interno di un organismo sia sotto forma organica che in forma inorganica in tutti i tessuti e liquidi del corpo. Questo minerale è una componente essenziale in molte molecole biologiche come lipidi, carboidrati, acidi nucleici e proteine e inoltre gioca un ruolo centrale nella regolazione dell'intero metabolismo (Cashman, 2011a). Quasi l'80% del P presente in un organismo è contenuto nei denti e nelle ossa legato assieme al Ca a formare sali di apatite e fosfato di calcio (NASEM, 2021). Il P è presente, inoltre, in ogni singola cellula del corpo e partecipa in tutte le transizioni energetiche che avvengono. I vari trasferimenti energetici che avvengono all'interno del metabolismo sono a carico di specifiche molecole come l'adenosina trifosfato (ATP). L'assorbimento o il rilascio di energia avviene tramite costruzione o rottura del legame ad alta energia tra gli ossidi del fosfato e i composti del carbonio (NASEM, 2021). Il P è coinvolto anche nei processi di divisione cellulare e nei complessi sistemi tampone acido-base del sangue o di altri liquidi corporei. La normale concentrazione di P nel plasma sanguineo va da 1,3 a 2,6 mmol/L. Il sangue contiene invece 6-8 volte la concentrazione appena citata (Goff, 1998). La concentrazione del P all'interno della cellula è circa 10 volte maggiore di quella del plasma (Goff, 1998).

Il P è importante anche perché è richiesto come fonte di alimentazione dai microrganismi ruminali per digerire al meglio la cellulosa (Burroughs et al., 1951) e per la sintesi di proteina microbica (Breves & Schröder, 1991). Il P che arriva a livello ruminale deriva dagli apporti alimentari e dal complesso sistema di riciclo del minerale stesso che ritorna via saliva. La concentrazione del P nel sangue viene regolata da variazioni nell'assorbimento dall'intestino, attraverso mobilitazione del minerale dalle ossa, dal riciclo del fosforo attraverso la saliva o dalla sua escrezione attraverso l'apparato urinario. L'omeostasi del P viene però principalmente regolata tramite saliva (Breves & Schröder, 1991). Il minerale assorbito se è in eccesso rispetto ai valori ottimi di concentrazione del sangue viene trasferito tramite saliva e rientra nel rumine. Questo minerale viene assorbito principalmente a livello dell'intestino tenue (Grace et al., 1974; Reinhardt et al., 1988), ma piccole quantità vengono assorbite anche nel rumine, omaso e abomaso (NASEM 2021, 2021).

Come descritto da Goff (1998) le carenze di P possono manifestarsi come mancanza di appetito, crescita lenta, mancanza di performance durante la lattazione e problemi di fertilità. Nei casi più gravi

la carenza provoca indebolimento delle ossa e osteomalacia. Anche in condizioni di ipofosfatemia cronica, le concentrazioni del P nel latte rimangono all'interno dei range medi. L'eccesso di P invece interferisce con il metabolismo del Ca causando un eccessivo riassorbimento del Ca dalle ossa e conseguenti calcoli renali (NRC, 2005). L'eccesso di P nella dieta può causare anche diarree e disfunzioni a livello addominale. L'animale però riesce a regolare abbastanza bene la quantità di minerale assorbito tramite eliminazione dell'eccesso mediante la saliva o le escrezioni fecali (NASEM, 2021).

Il P contenuto nel latte può subire ampie variazioni a causa di diversi fattori già citati in precedenza, ma mediamente l'intervallo va da 630 a 1020 g di P per kg di latte (Šimun Zamberlin et al., 2012). Il 20% del P contenuto nel latte si trova sotto forma di fosfato organico legato alle caseine, il restante 80% è in forma inorganica. Di quest'ultima forma il 44% è legato alle micelle caseiniche come fosfato di calcio e il 56% è presente nella fase solubile prevalentemente come ioni fosfato liberi (Cashman, 2011a).

➤ *Il sodio*

Nella loro evoluzione i bovini si sono modificati per vivere con foraggi poveri in Na. Questo li ha portati a sviluppare un efficiente sistema di recupero del minerale attraverso i reni e un accurato assorbimento dello stesso nell'intestino. Solo una piccola parte del Na stoccato nell'organismo è facilmente utilizzabile (NASEM, 2021). Inoltre, di tutto il sodio contenuto nel corpo, una quantità che va dal 30% al 50% è contenuta nella struttura cristallina delle ossa e non è scambiabile (Edelman et al., 1954). Il Na è il principale catione contenuto nel fluido extracellulare e svolge numerose funzioni all'interno dell'organismo (Cashman, 2011a; Gaucheron, 2005; NASEM, 2021; Šimun Zamberlin et al., 2012). Il Na scambiabile controlla e regola il volume del liquido extracellulare e l'equilibrio acido-base. Questo minerale, nel corretto rapporto con il K, è coinvolto nella normale funzione cardiaca, nella trasmissione e conduzione di impulsi nervosi e nella contrazione muscolare. Il Na è un elemento fondamentale perché regola il potenziale di membrana, l'equilibrio osmotico e quindi l'osmolarità del sistema. Esso funge anche da componente essenziale nel trasporto attivo di sostanze attraverso la membrana cellulare, partecipando all'attività di diversi enzimi come la pompa sodio-potassio che è incaricata del trasporto di varie sostanze complesse come glucosio, amino acidi, fosfati e elementi più semplici come ioni di Ca, K e Cl. Il Na è il principale minerale contenuto nella saliva e ha un ruolo fondamentale nell'equilibrare, assieme agli altri cationi, il pH ruminale per favorire l'attività dei microrganismi (Dijkstra et al., 2012). Questo minerale viene assorbito dall'organismo tramite trasporto attivo nel reticolo, nell'abomaso, nell'omaso e nel duodeno. Può manifestarsi anche il trasporto passivo che principalmente trasloca il Na dalla materia fecale alle

cellule intestinali. Il Na contenuto nella dieta viene assorbito generalmente nella sua totalità (Goff, 2018).

Le carenze di Na possono manifestarsi dopo alcune settimane o anche dopo mesi dalla dieta carente, in base alla quantità di latte prodotto. I sintomi di carenza più comuni sono la perdita di appetito e quindi riduzione dell'ingestione di sostanza secca con conseguente perdita di peso corporeo e in quantità di latte prodotto. Caratteristica è anche la perdita di tono dell'animale che mostra un occhio spento e il pelo del mantello che diventa ruvido (E.J. Underwood et al., 1999). Eccessi di Na possono manifestarsi in seguito all'ingestione di acque troppo ricche in Sali oppure dall'ingestione di foraggi derivanti da suoli salini (E.J. Underwood et al., 1999). Oltre a disturbi nelle normali funzioni dell'organismo, come lo sviluppo di edemi, la tossicità può causare anoressia, anidremia, riduzione dell'ingestione di acqua e come ultimo il collasso fisico (NASEM, 2021). Nel latte il contenuto di Na non è condizionato dagli apporti e caratteristiche della dieta (Cashman, 2011a). La concentrazione di Na nel latte può variare da 400 a 580 mg/L (Šimun Zamberlin et al., 2012).

➤ *Il potassio*

Il K è il terzo elemento più abbondante del corpo, ma presenta i maggiori fabbisogni tra tutti i minerali. L'organismo non riesce a immagazzinarne in grandi quantità e per questo motivo il minerale deve essere assunto giornalmente dall'animale per favorire il corretto svolgimento delle varie funzioni (NASEM, 2021).

Il K svolge numerose funzioni all'interno di un organismo, molte delle quali sono in comune con gli altri macrominerali come Cl e Na. Il K è coinvolto attivamente nella regolazione della pressione osmotica, nell'equilibrio acido-base della soluzione e nell'equilibrio dell'acqua. Il K, assieme al Na, è l'elemento coinvolto maggiormente nella regolazione del turgore della cellula e del potenziale ionico. Infatti, attraverso la pompa sodio-potassio questi elementi vengono traslocati all'esterno o all'interno della cellula cambiandone gli equilibri di membrana (Ogawa et al., 2009). Il K è coinvolto inoltre nella trasmissione di impulsi nervosi, nella contrazione dei muscoli, nel trasporto di ossigeno e anidride carbonica, nella fosforilazione della creatina, nell'attività della piruvato chinasi. Funge poi da attivatore o co-fattore in diverse reazioni enzimatiche, mantiene in attività il tessuto cardiaco e renale ed è coinvolto nel metabolismo dei carboidrati, nella sintesi di proteine e nell'assorbimento da parte della cellula di amminoacidi (Cashman, 2011a; Hemken & R. W, 1983; NRC, 1980; Stewart & P. A., 1981). Il K è uno dei maggiori cationi presenti all'interno di una cellula, con una concentrazione che è circa 30 volte superiore rispetto a quella dello spazio extra-cellulare (Cashman, 2011a). La cellula contiene dai 150 ai 155 meq/L di K, al contrario del sangue che ne contiene tra i 5 e 10 meq/L (NASEM, 2021). Tra tutto il K contenuto nel corpo, l'80% si trova legato ai tessuti magri e alle ossa.

Il K è assorbito principalmente tramite diffusione semplice, quindi senza consumo di energia, nel tratto intestinale del duodeno. Piccole frazioni possono essere assorbite anche nel digiuno, ileo e nell'intestino crasso. L'eccesso di K viene eliminato primariamente tramite le urine attraverso un processo che si basa sul riassorbimento del Na e quindi una conseguente escrezione del K per mantenere l'equilibrio di carica elettriche delle cellule (NRC, 2001). Avendo alti fabbisogni relativi al K, la vacca da latte può manifestare diversi sintomi se con la dieta non ne viene assunta la quantità necessaria. Tra i più comuni sintomi troviamo perdita di ingestione di sostanza secca e acqua con conseguente perdita di resa, geofagia, perdita di peso corporeo e minor concentrazione di K nel sangue e nel latte. In condizioni di grave carenza l'animale sarà estremamente debole con perdita del tono intestinale (Sielman et al., 1997). Per quanto riguarda gli eccessi, la concentrazione che causa problemi non è ancora definita (Ward, 1966). Tuttavia, consumi di foraggi ricchi in potassio possono causare sovraccarichi dell'organismo interferendo con il metabolismo del Mg e del Ca (NRC, 2001; Spears, 2015). Se la carenza colpisce le vacche in parto può causare la comparsa di ritenzioni idriche e edemi.

Nel latte il K è il nutriente che è presente in maggiori quantità con una concentrazione che può variare da 1440 a 1780 mg/L (Šimun Zamberlin et al., 2012).

➤ *Lo zolfo*

Lo zolfo rappresenta circa lo 0,5-2% del peso corporeo dell'animale (Neville F. Suttle, 2010). Lo S è presente all'interno degli amminoacidi metionina, cisteina, omocisteina e taurina; in molecole strutturali come il solfato di coindroitina; nella vitamina B1; nella biotina e in altre importanti molecole strutturali (NASEM, 2021). I bovini non riescono a sintetizzare la metionina, biotina e tiamina dai tessuti e per questo motivo queste molecole devono essere assunte con la dieta o prodotte dai microrganismo intestinali. L'apporto di questo minerale con la dieta assicura la normale attività dei microrganismi ruminali e la loro massima efficienza di sintesi e degradazione (NRC, 2001). La flora ruminale è in grado di incorporare lo S inorganico dentro le proteine microbiche (Kandyliis, 1984a). Queste proteine verranno poi assorbite all'interno dell'intestino tenue, fornendo amminoacidi di alto valore biologico utili per il sano sviluppo dell'animale (E.J. Underwood & N.F. Suttle, 1999).

Le funzioni dello S sono svariate, in base alle proteine a cui è legato. Questo minerale è spesso presente come gruppi sulfidrilici o nei legami disolfuro che svolgono diverse funzioni, come mantenere la struttura spaziale terziaria delle proteine o fungere da punto di attacco di gruppi

prostetici o a substrati, fondamentali per il lavoro di vari enzimi. Lo S è inoltre contenuto in vari enzimi come l'insulina e l'ossitocina (Neville F. Suttle, 2010).

I sintomi di carenza non sono del tutto specifici perché possono essere comuni ad altre carenze nutrizionali o a fattori che deprimono l'attività della flora ruminale. Nei bovini la carenza può essere manifestata come perdita di appetito e riduzione della capacità di degradazione della fibra. Sintomi di eccesso di S possono manifestarsi con effetti diretti e indiretti sull'animale, soprattutto come carenze o alterazioni dello stato di diversi microminerali. Una dieta con oltre lo 0,4% di S totale può portare a riduzioni nell'assorbimento di Cu e Se (Ivancic & Weiss, 2001; Richter et al., 2012) e alterazioni negative nell'accumulo di Mn e Zi (Pogge et al., 2014). È probabile però che anche a concentrazioni di S più basse nella dieta si possono riscontrare effetti negativi (NASEM, 2021). Un acuto eccesso di questo minerale influenza lo sviluppo di cambiamenti neurologici che portano a cecità, coma, contrazioni muscolari e decubito forzato dell'animale (Kandyliis, 1984a).

➤ *Il magnesio*

Il magnesio è un minerale fondamentale nel metabolismo dei ruminanti. Questo minerale è uno dei cationi maggiormente presenti all'interno della cellula animale e funge da cofattore di molti enzimi in tutte le maggiori reazioni che avvengono nell'organismo (NASEM, 2021). Anche se gran parte del Mg presente nel corpo, circa il 60-70%, si trova all'interno del tessuto osseo (E.J. Underwood & N.F. Suttle, 1999), nei tessuti molli rappresenta il secondo catione per importanza, secondo solo al K (Neville F. Suttle, 2010). Di quest'ultima frazione, l'80% del Mg si trova legato alle proteine presenti nell'organismo. Il Mg si associa in genere soprattutto ai microsomi, dove svolge un ruolo fondamentale come catalizzatore delle reazioni enzimatiche che avvengono all'interno della cellula. In questi organelli facilita l'unione dei vari substrati reagenti e funge da primo punto di legame (Ebel & Günther, 1980). Il Mg inoltre partecipa come coadiuvante nella fosforilazione ossidativa che porta alla produzione di ATP, sostiene e partecipa a una serie di processi enzimatici come la pompa sodio-potassio e la piruvato ossidasi e a processi di conversione o ossidazione di diverse sostanze (Shils, 1997). Il Mg legato ai gruppi fosfato nelle catene polipeptidiche influenza la struttura e formazione delle stesse. Inoltre, gli scambi del Mg con il calcio influenzano la contrazione muscolare (Ebel & Günther, 1980; Shils, 1997) e la stabilità della membrana plasmatica è influenzata dai legami tra il Mg e i fosfolipidi. Il magnesio è richiesto anche dai microrganismi ruminanti per catalizzare diversi enzimi essenziali per il mammifero (Neville F. Suttle, 2010), regola la crescita del tessuto osseo, partecipa alla regolazione della pressione sanguinea e alla trasmissione degli impulsi nervosi (Cashman, 2011a).

Nei giovani vitelli l'assorbimento del magnesio è a carico dell'intestino tenue. Una volta che ruminale e reticolo si sono sviluppati diventano gli unici siti di assorbimento di questo minerale. I bovini hanno una grande capacità di trattenere ed espellere il Mg in eccesso tramite le urine, per questo sintomatologie particolari derivanti da eccesso sono poco riscontrate. Nell'NRC 2005 viene fissato un limite pari allo 0,6% per il Mg assunto con la dieta. Oltre alla soglia dell'1% l'animale può accusare perdita di appetito, riduzione della digeribilità della dieta e diarrea osmotica (NASEM, 2021). Al contrario della tossicità, la carenza è una patologia più comune, anche a causa dei rapporti di antagonismo tra il Mg e altri minerali come il K. I sintomi più comuni di ipomagnesia sono convulsioni, spasmi muscolari, ipereccitazione e nei casi più gravi la morte (Martens et al., 2018). L'ipomagnesia o tetania da erba ricorre spesso in primavera quando gli animali sono alimentati con i primi foraggi prodotti, i quali sono tendenzialmente poveri in Mg (NASEM, 2021; Spears, 2015).

Nel latte il Mg si trova per la quasi totalità, 98-100%, nella frazione magra. Di questo, il 65% è contenuto nella fase solubile, il resto è presente legato alle micelle caseiniche nella fase colloidale (Cashman, 2011a; Šimun Zamberlin et al., 2012). La concentrazione media di Mg nel latte è pari a 110 mg/L (Cashman, 2011a).

1.6.3 I microminerali

I microminerali sono elementi inorganici che sono assunti in minore quantità dall'organismo nell'ordine dei milligrammi o microgrammi. All'interno di questa macrocategoria però è necessario fare un'importante suddivisione tra i microminerali essenziali e i minerali in tracce o ambientali.

I microminerali essenziali come il cobalto, il rame, lo iodio, il ferro, il manganese, il molibdeno, il selenio e lo zinco si trovano in piccole ma rilevanti quantità nei tessuti corporei e sono importanti cofattori di molti enzimi o componenti di ormoni del sistema endocrino (NRC, 2001). I minerali ambientali come il cromo, l'alluminio, lo stronzio, il boro, il bario, il titanio, il piombo, il cadmio, il cobalto, il molibdeno, l'arsenico e il nichel, sono elementi che si trovano in quantità minore all'interno degli animali e sono assunti generalmente per contaminazione degli alimenti con l'ambiente.

Molti di questi minerali, oltre ad essere molto importanti, possono essere la causa di fenomeni di tossicità (soprattutto quelli ambientali) all'interno dell'animale. Se assunti in quantità troppo elevate possono accumularsi nel corpo causando molti problemi, come ad esempio disfunzionalità del sistema renale e digestivo, o possono interferire con l'assorbimento di altri nutrienti.

I microminerali essenziali

➤ *Lo zinco*

Lo zinco è un microelemento essenziale per il corretto svolgimento di tutte le funzioni all'interno dell'organismo dal momento che partecipa all'attività di oltre 200 ormoni ed enzimi (F. Gaucheron, 2013; Tapiero & Tew, 2003). Questo minerale si trova principalmente nei muscoli (60%) e nelle ossa (30%) (F. Gaucheron, 2013). Lo Zn è un componente importante dell'ormone insulina (Šimun Zamberlin et al., 2012) e di enzimi della classe delle ossidoriduttasi, transferasi, idrolasi, liasi e ligasi (Kidd et al., 1996). Lo Zn è coinvolto nel metabolismo dei macronutrienti come proteine, carboidrati e acidi nucleici; nella regolazione dell'espressione dei geni; nella trasmissione degli impulsi e nell'apoptosi. Questo minerale è inoltre un importante agente di controllo di tutto il sistema di immunità presente all'interno dell'organismo. Uno dei maggiori fattori di controllo del sistema immunitario è dato dal cambiamento di concentrazione dello Zn all'interno delle cellule immunitarie (Haase & Rink, 2009). Lo Zn regola anche lo sviluppo, la crescita e la maturazione sessuale andando ad incidere sulla produzione e attività dei diversi ormoni coinvolti (Cashman, 2011b). In caso di carenza di Zn i sintomi si manifestano velocemente come riduzione dell'ingestione di sostanza secca e riduzione e disordini nella crescita (NASEM, 2021). La mancanza di Zn può ridurre anche la sintesi di prostaglandina andando ad influire sulla funzionalità luteale (Graham, 1991). I bovini riescono a tollerare bene gli eccessi di Zn anche se questi possono interferire soprattutto con il metabolismo e l'assorbimento del Cu.

Nel latte lo Zn è contenuto prevalentemente nella frazione magra, con solo un 1-3% contenuto in quella lipidica. Considerando la prima frazione, il 95% è legato alle micelle caseiniche, la restante parte è associata a molecole a basso peso molecolare come il citrato. La concentrazione media del minerale nel latte si aggira intorno a 3,9 mg/L, anche se il valore può subire importanti variazioni. Un esempio è il colostro che nei primi tre giorni post-parto contiene il 50% in meno di Zn (Cashman, 2011b). Il minerale assunto con la dieta influisce sul contenuto dello stesso nel latte ed è stato riscontrato inoltre che un incremento dell'assunzione di zinco porta ad un minore contenuto di cellule somatiche (Pechová et al., 2006).

➤ *Il ferro*

Il ferro è il micromin minerale più abbondante all'interno dell'organismo, il 60% è presente come emoglobina contenuta all'interno del sangue (Neville F. Suttle, 2010). La restante parte è stoccata all'interno della milza, del fegato e nel midollo osseo (F. Gaucheron, 2013).

Il Fe è un elemento essenziale che partecipa ed è coinvolto in molti processi metabolici del vivente. Questo minerale è contenuto all'interno dell'eme, molecola base per la formazione di emoglobina, mioglobina, citocromo e altre proteine. Tutte queste proteine giocano un ruolo di primaria importanza nel trasporto, accumulo e utilizzazione dell'ossigeno fondamentale per la vita di ogni cellula (Cashman, 2011b; NASEM, 2021; Šimun Zamberlin et al., 2012; Spears, 2015). Il Fe funge da cofattore per un ampio numero di enzimi (Bates & Prentice, 1996). Questo minerale è inoltre coinvolto in tutte le fasi del ciclo degli acidi carbossilici (ciclo di Krebs) attivando diversi enzimi come la succinato deidrogenasi (ubichinone). Altri enzimi contenenti il ferro, come catalasi e perossidasi, hanno il compito di rimuovere i prodotti potenzialmente tossici del metabolismo.

La carenza di Fe è una delle patologie più comuni che ricorrono quando l'animale è nei primi stadi di crescita. La carenza si traduce in un'anemia ipocromica microcitica causata dalla mancata produzione di mioglobina che si manifesta come riduzione dell'ingestione, diminuzione della crescita, anoressia e spossatezza (Bremner & Dalgarno, 1973). La carenza può causare anche morbilità e mortalità dovute alla riduzione delle risposte immunitarie (Mollerberg & Moreno-Lopez, 1975). Negli animali adulti sintomi di carenza sono poco riscontrati perché il minerale è presente abbondantemente nei foraggi o come contaminazione dal suolo. Eccessi di ferro sono tollerati dagli animali anche se possono portare a diversi problemi. Un accumulo eccessivo di ferro libero causa la generazione di specie altamente reattive che danneggiano i tessuti e sono tossiche per l'organismo (Halliwell, 1987) e può indurre a infezioni generali perché questo minerale è usato come fonte di alimentazione dei microbi (Baynes et al., 1986). Diarrea, riduzione dell'ingestione e scarsa crescita sono sintomi di eccesso di Fe.

Nel latte il Fe ha una concentrazione di circa 0,3 mg/L ed è legato a diverse molecole come lipidi, proteine e altre molecole a basso peso molecolare (Cashman, 2011b). Questi legami sfavoriscono l'assorbimento del Fe una volta ingerito il latte ed è per questo motivo che nei giovani animali le carenze sono molto comuni.

➤ *Il rame*

Il rame è un elemento essenziale per molte funzioni metaboliche che avvengono nel vivente. Questo minerale funge da componente base per molte proteine e metallo-enzimi come la citocromo ossidasi, la lisina ossidasi e la tirosinasi. Il Cu partecipa al metabolismo del Fe e contribuisce alla sintesi di emoglobina e quindi alla formazione dei globuli rossi. Assieme allo Zn, il Cu è presente nella superossido dismutasi che ha la funzione di eliminare gli effetti tossici dei composti reattivi

dell'ossigeno (ROS) che altrimenti deprimerebbero la cellula. Un adeguato apporto di questo minerale inoltre favorisce l'attività delle cellule immunitarie riducendo così lo sviluppo di infezioni (Gaucheron, 2013; NASEM, 2021).

Le carenze di Cu nell'alimentazione possono portare a tutta una serie di disordini che colpiscono le diverse funzioni dell'animale. I sintomi comuni sono la perdita dei peli o le decolorazioni del mantello. In caso di carenza di Cu ed eccesso di Mo si può riscontrare diarrea. Neville F. Suttle (2010) descrive altri sintomi come anemia, fragilità delle ossa e osteoporosi, atassia, disordini e problemi cardiocircolatori, infertilità e ritardi di crescita. Un inadeguato apporto di Cu deprime anche il sistema immunitario a causa della riduzione dell'attività dei fagociti. La riduzione della risposta immunitaria a seguito della carenza di Cu può essere la causa dell'insorgenza di mastiti (Scaletti et al., 2003). Tra tutti i minerali presenti nell'animale, il Cu è quello che causa maggiore tossicità se fornito in eccesso. La tossicità è causata dall'ingestione di foraggi e mangimi contaminati da sostanze ricche di Cu usate in agricoltura o in industria (E.J. Underwood & N.F. Suttle, 1999). Gli eccessi di Cu si accumulano nel fegato e, in seguito a stress o ad altri fattori, possono venir liberati causando una crisi emolitica. Questa crisi si caratterizza per alti livelli di emolisi, itterezia, emoglobulinuria, necrosi sparse e a volte anche la morte (E.J. Underwood & N.F. Suttle, 1999; Johnston et al., 2014).

Il latte è generalmente povero di questo nutriente contenendo in media 0,1 mg/l (Cashman, 2011b). Il Cu è contenuto nella frazione grassa legato ai lipidi, legato alle siero-proteine, alle caseine e a molecole a basso peso molecolare rispettivamente per il 2%, l'8%, il 44% e il 47%. Il contenuto di Cu nel latte può essere modificato variando la sua concentrazione all'interno della dieta.

➤ *Il manganese*

Il metabolismo degli amminoacidi, dei lipidi, dei carboidrati e il funzionamento dei vari organi necessitano il Mn come cofattore essenziale di enzimi e altre proteine. Nel vivente sono presenti diversi metallo-enzimi che richiedono il Mn per svolgere la loro attività. Questo minerale è fondamentale per una crescita corretta delle ossa e dei tessuti cartilaginei in quanto è responsabile dell'attivazione dell'enzima glicosil-transferasi che sintetizza i mucopolisaccaridi della cartilagine. Una carenza di Mn causa malformazioni e disfunzioni a livello osseo come ridotto accrescimento e debolezza delle ossa, deformazione delle articolazioni, brachignatia e atassia (NASEM, 2021). Nei mitocondri è presente la superossido dismutasi, un metallo-enzima che assieme ad altri antiossidanti protegge la cellula dai danni dei ROS (Neville F. Suttle, 2010). Una carenza di Mn riduce l'attività dell'enzima nel cuore (Davis et al., 1992) e aumenta le ossidazioni causate da alti livelli di acidi grassi

polinsaturi (Malecki & Greger, 1996). Il Mn è presente all'interno dei mitocondri delle cellule, nel fegato, nei peli e nella matrice inorganica delle ossa. Un deficit di questo minerale nelle vacche da latte causa il manifestarsi di calori silenti e un minor tasso di concepimento (NASEM, 2021).

L'assorbimento del Mn con la dieta è molto ridotto, il limite massimo fissato da NRC 2005 è di 2 mg Mn/kg di sostanza secca. Considerando che il fabbisogno è molto basso, possono essere riscontrati non così raramente sintomi da tossicità. L'eccesso può causare riduzioni nell'ingestione e riduzioni della crescita (Jenkins & Hidioglou, 1991).

Il latte vaccino è un alimento abbastanza povero in relazione al contenuto di Mn, contiene in media 30 µg/l di Mn (Cashman, 2011b). Il minerale è legato per il 67% alle caseine, il 14% alle sieroproteine, il 18% a molecole a basso peso molecolare e l'1% è legato ai globuli di grasso (Šimun Zamberlin et al., 2012).

I microminerali ambientali

➤ *L'alluminio*

L'alluminio è il terzo elemento più comune sulla crosta terrestre e il più abbondante su molti tipi di terreno. Molti suoli sono costituiti dal 3% al 6% di Al, ma nella soluzione circolante la concentrazione di questo sale non supera i 2,25 mg/l perché si trova principalmente sotto forma di silicati insolubili (Neville F. Suttle, 2010). Un 10% circa della dieta degli animali può essere rappresentato da contaminazioni di terreni e si può evidenziare quindi che i problemi con questo minerale sono da attribuire alla sua tossicità e non a problemi di carenza. Le contaminazioni con il terreno possono avvenire con i foraggi prodotti per gli animali allevati in stalla, ma il bovino al pascolo può assumere quantità maggiori di questo minerale (Robinson et al., 1984). Questo minerale può essere assunto anche tramite acque di abbeverata se queste sono state trattate preventivamente con allume, un purificatore (NRC, 2005). Di tutto l'Al ingerito solo meno dell'1% è assorbito e questa quantità viene rapidamente escreta con le urine (Greger, 1993; NRC, 2005). Il poco Al che viene ritenuto viene accumulato nei tessuti e nelle ossa, soprattutto se la funzione renale è compromessa (Thurston et al., 1972).

Negli animali un eccesso di Al interferisce principalmente con il metabolismo di altri minerali causando carenze come nel caso del P (Allen, 1984). Il limite massimo che può essere tollerato dall'animale senza incorrere in patologie non volute è di 1 g/kg di sostanza secca (BAILEY, 1977; Valdivia et al., 1978).

➤ *Il cromo*

Il cromo è presente soprattutto nei tessuti come molecola metallica formata da cromo trivalente (Cr^{3+}), acido nicotinico, acido glutammico, glicina e cisteina, quest'ultima presente come fattore di tolleranza del glucosio (GTF) (Toepfer et al., 1977). Il GTF è un agente che potenzia l'azione dell'insulina e quindi la sua attività nel regolare il metabolismo dei carboidrati (Govindaraju et al., 1989). In assenza del Cr il GTF è inattivo e quindi il minerale è fondamentale per la corretta funzione di questa via metabolica. Nei vitelli sotto stress è stato riscontrato che un piccolo apporto di Cr trivalente (Cr III) con la dieta stimola l'appetito, la risposta e l'attività del sistema immunitario e una ripresa dell'accrescimento corporeo (Chang & Mowat, 1992; Moonsie-Shageer & Mowat, 1993). Nelle vacche in pre-parto invece, un apporto di Cr migliora lo stato umorale e la risposta del sistema immunitario (Burton et al., 1993), influisce sul metabolismo dei lipidi e sull'attività ruminale (Besong et al., 2001) e aumenta la produzione di latte ma solo nelle vacche primipare.

Il limite massimo per la tolleranza di questo minerale è stato fissato pari a 100 mg Cr/kg di sostanza secca (NRC, 2005). Non si conoscono esattamente gli effetti di un eccesso di Cr in vivo, ma in vitro la Cr picolinato può causare la produzione di radicali idrossili che possono influenzare negativamente il sistema immunitario, danneggiare il DNA e ossidare le membrane (Vincent, 2000).

➤ *Lo stronzio*

Lo stronzio è uno dei metalli alcalini presenti nella Terra e rappresenta lo 0,02-0,03% della crosta terrestre (Pors Nielsen, 2004). Questo minerale è facilmente ossidabile e perciò in natura non si trova come forma libera ma come ossido di metallo. Lo Sr all'interno di un organismo si trova in piccole tracce accumulato nelle ossa (Anderson, 1992a) o legato alle proteine nei fluidi vitali come siero e plasma (Pors Nielsen, 2004). Questo minerale è stato molto studiato in passato per la potenziale pericolosità della forma radioattiva che può essere assunta anche con latte e derivati.

Lo Sr compete con il calcio in diverse fasi della via metabolica come nell'assorbimento intestinale e nell'assorbimento da parte dei tuboli renali. È stato inoltre riscontrato che lo Sr interferisce con lo ione Ca nella fase di attivazione dei recettori di membrana (Anderson, 1992a). Questo minerale svolge un'azione antagonista anche contro il rilascio del paratormone prodotto dalla ghiandola paratiroide (López-Barneo & Armstrong, 1983). Tra tutti i minerali in tracce presenti nelle ossa però, lo Sr è l'unico che è strettamente correlato con la loro forza di compressione (Jensen J-EB et al., 1997).

➤ *Il boro*

Il boro è un microelemento essenziale sia per le piante che per il metabolismo ordinario dell'uomo e degli animali. Negli animali il ruolo di questo minerale non è stato compreso ancora fino in fondo, soprattutto il suo ruolo all'interno della dieta, ma la sua importanza non è messa in discussione (Bhasker et al., 2015a). Il B è legato saldamente ai gruppi cis-idrossilici potendo formare così complessi con la riboflavina, l'estradiolo e con i metaboliti della vitamina D (Neville F. Suttle, 2010).

Da studi svolti sui ratti è stato evidenziato che un'aggiunta di B alla dieta ha effetti positivi sulla digeribilità della sostanza secca, delle proteine e dei grassi e favorisce inoltre anche una corretta crescita (Bhasker et al., 2016). Il B svolge un'azione positiva sull'attività del sistema immunitario e migliora i meccanismi di difesa tramite molecole antiossidanti (Bhasker et al., 2015b). È stato evidenziato anche che il B svolge importanti funzioni nella mineralizzazione (Hakki et al., 2010) e sviluppo delle ossa (Uysal et al., 2009); una carenza di questo minerale può causare ritardi e anomalie nello sviluppo delle ossa.

Apportando con la dieta una quantità maggiore di 800 mg B/kg di sostanza secca, nei bovini sono stati riscontrati sintomi da eccesso di minerale come perdita di appetito e di peso corporeo (E.J. Underwood & N.F. Suttle, 1999).

➤ *Il bario*

Il bario è un metallo alcalino che si trova abbondantemente nella crosta terrestre, essendo il quattordicesimo minerale per abbondanza sulla superficie della Terra. Chimicamente è molto reattivo e per questo motivo non si trova mai come elemento libero ma sotto forma di sale come solfato o carbonato (Peana et al., 2021). Non è stata ancora dimostrata un'effettiva utilità del Ba all'interno del metabolismo dell'uomo e degli animali. Il Ba è usato in molteplici applicazioni industriali e questo può causare esposizioni prolungate e fenomeni di tossicità.

L'ingestione di Ba solubile può causare seri danni all'attività delle cellule portando alla paralisi ipopotassemica che si manifesta come arresto respiratorio e cardiocircolatorio (Peana et al., 2021). Se viene ingerito bario sotto forma di carbonato, questo può facilmente sciogliersi all'interno dello stomaco causando intossicazioni anche gravi che, se si manifestano in modo acuto, possono portare a svariati sintomi. Tra i più annoverati si possono riscontrare problemi a livello gastrointestinale; a livello metabolico con lo sviluppo di ipopotassemia; a livello cardiovascolare con alterazioni del ritmo cardiaco e pressione sanguigna; a livello muscolare-scheletrico visibili come debolezza,

intorpidimento e anche paralisi; e infine la tossicità può ricadere anche a livello neurologico con manifestazione di tremori e convulsioni (Moffett D et al., 2007).

➤ *Il titanio*

Il titanio è molto presente in natura essendo il nono elemento per abbondanza nella crosta terrestre, rappresenta circa lo 0,6% (Zierden & Valentine, 2016). Dal momento che il Ti è molto utilizzato in industria, come per la produzione di pitture o leghe metalliche, è considerato un elemento contaminante a livello ambientale (Anderson, 1992b). Il Ti non è naturalmente presente in un organismo ma viene assunto per ingestione o per inalazione, lo si può trovare accumulato nel fegato, nella milza, nei polmoni o nei reni (Schroeder et al., 1963). È stato riscontrato che il Ti non è essenziale per nessuna attività negli organismi ma comunque è un elemento abbondante e bioattivo (Zierden & Valentine, 2016). Nel passato il Ti era stato etichettato come possibile agente batteriostatico (Schwietert & McCue, 1999), studi più recenti hanno rivelato una maggiore sensibilità di alcuni ceppi batterici a questo elemento ma anche specifiche resistenze (Park et al., 2006). Nei mammiferi, invece, può avere differenti effetti. Da studi effettuati sui ratti il Ti può essere la causa di tossicità che porta a problemi di infertilità e mortalità. Al contrario, se viene somministrato in particolari forme (come l'ossalato di Ti), può essere benefico per l'incremento ponderale di crescita e sulla prevenzione di sviluppo di tumori (Schroeder et al., 1964). Il Ti nell'organismo può accumularsi e sostare per lungo tempo all'interno del corpo, come nei reni, polmoni, fegato o altri tessuti, ma questo non causa seri problemi di tossicità (Zierden & Valentine, 2016).

2- SCOPO DEL LAVORO

L'obiettivo iniziale di questo lavoro è principalmente quello di caratterizzare il profilo minerale del latte vaccino in condizioni fisiologiche. Una volta fatto ciò si vuole osservare se esistono delle associazioni tra il profilo minerale e alcune fonti di variazione individuali dell'animale per evidenziare eventuali relazioni. Nello specifico sono state prese in considerazione l'ordine di parto, i giorni di lattazione e come ultima la produzione totale di latte della vacca.

L'analisi di associazione tra minerali e fonti di variazione implica uno studio della fisiologia dell'animale per identificare al meglio le variazioni dei minerali durante la vita dell'animale. Questo aiuta a comprendere quali sono i minerali più importanti per l'animale e quelli che sono maggiormente coinvolti nei vari processi del metabolismo. Se le variazioni dei minerali vengono poi rapportate alla salute dell'animale, possono diventare un importante strumento di identificazione rapida dello stato sanitario della vacca.

Per questo lavoro di tesi sono state campionate bovine provenienti da 5 allevamenti e con diverso stato fisiologico, questo per avere un dato più reale e rappresentativo senza troppe influenze generate dall'effetto del singolo animale.

3- MATERIALI E METODI

3.1 Campionamento degli animali

I dati rilevati in questo progetto di ricerca nascono dal lavoro svolto in due precedenti progetti, LATSAN e BENELAT. Il primo è un progetto del Dipartimento MAPS dell'Università degli Studi di Padova che ha avuto come obiettivo generale l'approfondimento delle conoscenze sulla mastite nelle vacche da latte e lo studio di nuovi indicatori per la sanità della mammella e la qualità del latte. BENELAT, invece, è un progetto che ha avuto come cardine il miglioramento del benessere animale finalizzato ad un incremento della sostenibilità e competitività del settore latte, in particolare quello lombardo.

I dati sono stati raccolti tra maggio 2019 e gennaio 2021 mediante il campionamento di 1013 vacche di razza Frisona Holstein presenti in 5 diversi allevamenti del Nord-Italia. Di queste, tre aziende si trovano in Veneto e allevano un totale di 103 animali, le altre due aziende si trovano in Emilia Romagna e allevano in totale 910 vacche. Gli animali sono allevati in stalle a stabulazione libera con zona riposo provvista di cuccette con letto di sabbia. Le vacche venivano munte due volte al giorno e alimentate con una razione completa (total mix ratio) basata sull'utilizzo di insilati di mais e sorgo arricchita dall'aggiunta di concentrati. Per avere un panorama più completo riguardo la dieta si fa riferimento alle tabelle 1 e 2 in appendice dove vengono riportate le razioni per le 5 aziende campionate.

I campionamenti del latte sono stati eseguiti durante le operazioni di mungitura una volta per singolo animale prendendo in considerazione un'azienda al giorno. Questo è stato fatto per facilitare gli addetti durante le operazioni di campionamento e durante le operazioni di analisi in laboratorio. Le mandrie più grandi sono state campionate in più giorni per garantire la qualità del campionamento e delle successive analisi. Sono stati campionati solo gli animali che dopo controllo medico risultavano in buono stato di salute, privi di malattie e in assenza di cure farmaceutiche.

3.2 Campionamento del latte

Durante le operazioni di mungitura per ogni animale sono stati raccolti due campioni di latte da analizzare, ciascuno dei quali conteneva 50 mL di latte. Dopo il prelievo, i campioni sono stati refrigerati e tenuti alla temperatura costante di 4°C fino al momento dell'analisi per mantenere

inalterato il prodotto. La prima aliquota, con l'aggiunta di un conservante (bronopol), era destinata ai laboratori dell'Associazione Allevatori della Regione Veneto per l'analisi della composizione del latte. Il secondo campione è stato trasportato e analizzato nei laboratori del Dipartimento di Agraria, Alimentazione, Risorse Naturali, Animali e Ambiente (DAFNAE) dell'Università degli Studi di Padova per la determinazione del profilo minerale del latte attraverso la spettroscopia ad emissione ottica (ICP-OES).

3.3 Preparazione del campione e analisi del latte

I campioni prelevati e refrigerati sono stati tutti analizzati entro 24 ore dalla data di prelievo presso il laboratorio qualità del latte del DAFNAE dell'Università di Padova. La produzione giornaliera (kg/d) di latte di ogni singolo animale è stata registrata come la somma della produzione delle singole mungiture giornaliere, quella della mattina e quella della sera. Le tecniche e gli strumenti utilizzati per determinare il profilo minerale del latte sono descritte in Stocco et al. (2021) e sono riportate in seguito in questo lavoro.

Ciascun campione è stato analizzato per la misura del contenuto di cellule somatiche (SCC) (Fossomatic Minor, Elettric A/S, Hillerød, Danimarca), il cui valore è poi stato trasformato logaritmicamente in SCS (somatic cell score) secondo Ali & Shook (1980). Il contenuto di grasso e proteina è stato misurato mediante l'analizzatore a infrarossi MilkoScan FT2 (Foss Elettric A/S), calibrato seguendo i seguenti metodi di riferimento (ISO 8968-2/IDF 20-2 per le proteine, ISO-IDF 2014; ISO 1211/IDF per i grassi, ISO-IDF, 2010). Per la determinazione del profilo minerale è stato utilizzato uno Spectro Arcos EOP ICP-OES (Spectro A.I. GmbH, Kleve, Germania) che ha permesso di identificare 16 elementi: Ca, P, S, Mg, K, Na, Zn, Fe, Cu, Mn, Al, Sr, B, Ba, Cr e Ti. Nel latte sono presenti altri minerali ma il loro contenuto è risultato essere inferiore al limite minimo di rilevabilità (limit of detection, LOD) dello strumento e quindi questi non sono stati considerati nell'analisi statistica. Per i minerali che presentavano dati mancanti inferiori al 25%, il valore considerato è pari alla metà del LOD.

I campioni di latte sono stati analizzati solo dopo la loro digestione nel sistema a microonde a vaso chiuso (Ethos 1600 Milestone S.r.l., Sorisole, BG, Italy). Precedentemente, da ciascun campione di latte son stati prelevati sottocampioni compresi tra 1,950 e 2,050 g e questi sono stati posizionati in un piatto di tetrafluorimetaclirato contenente 2 mL di perossido di idrogeno al 30% e 7 mL di acido nitrico concentrato (65%), ciascuno dei quali rispettava i parametri di qualità Suprapur (Merck

Chemicals GmbH, Darmstadt, Germania). Dopo aver fatto ciò si è potuto proseguire con la loro digestione nel seguente modo:

- step I: da 25 a 200°C in 18 min a 1.500 W e con P max 4.500.000 Pa;
- step II: 200°C per 15 min a 1.500 W con P max 4.500.000;
- step III: da 200 a 110°C in 15 min.

Una volta raffreddato a temperatura ambiente il campione digerito è stato diluito con acqua ultrapura (resistività 18,2 MΩ-cm a 25°C) fino a portare l'aliquota ad un volume finale di 20 mL.

Tutti i parametri riguardanti lo strumento ICP-OES sono stati ottimizzati per la soluzione di acido nitrico al 10% come riportato di seguito: osservazione assiale del plasma, nebulizzatore Crossflow, camera di nebulizzazione Scott Double Pass, torcia di iniezione di 3,0 mm di diametro, potenza del plasma di 1.400 W, gas refrigerante con una portata di 12 L/min, gas ausiliare con una portata di 0,6 L/min, gas di nebulizzazione con 0,85 L/min di portata, gas addizionale con 0,20 L/min di portata, tasso di assorbimento del campione pari a 2,0 mL/min, tempo di lettura replicato di 28 s, 3 repliche e 60 s di tempo di pre-flush. Le calibrazioni standard sono preparate utilizzando una soluzione multi-elemento e un singolo elemento (Inorganic Ventures Inc., Christianburg, VA) con acido nitrico Suprapur al 10% (Merck Chemicals GmbH) per ottenere una matrice simile ai campioni. La precisione e accuratezza di entrambi i metodi sono state testate analizzando una soluzione bianca, una soluzione di controllo a basso livello (limiti di recupero $\pm 30\%$), una soluzione di controllo a livello medio (limiti di recupero $\pm 10\%$) e materiale di riferimento standard internazionale BCR-063R "latte scremato in polvere" (Institute for Reference Reference Materials and Measurements, Geel, Belgio), lavorato e preparato come descritto per i campioni da analizzare. I valori misurati e certificati sono stati in eccellente accordo con quanto ricercato per tutti i minerali certificati nei materiali di riferimento standard.

3.4 Analisi statistica

3.4.1 Selezione dei dati

Non tutti i campioni di latte raccolti sono stati analizzati o usati all'interno del modello statistico al fine di descrivere la composizione a livello di minerali. Innanzitutto, le aliquote che contenevano un valore di SCC superiore a 1.000.000 sono state eliminate ed escluse prima di inserirle nell'analisi statistica.

3.4.2 Modello statistico

Per quanto riguarda il metodo di analisi è stata utilizzata la procedura PROC MIXED di SAS (SAS Institute Inc., Cary, North Carolina, USA) che ha consentito di analizzare ogni singola fonte di variazione del profilo minerale del latte. Il modello utilizzato è quello che segue:

$$y_{ijklm} = \mu + \text{giorni di lattazione}_i + \text{ordine di parto}_j + \text{produzione totale}_k \\ + \text{data/allevamento}_l + e_{ijklm}$$

Dove:

- y_{ijklm} è il tratto investigato cioè il singolo minerale;
- μ è la media complessiva;
- giorni di lattazione_{*i*} è l'effetto fisso della *i*-esima classe di giorni di lattazione (*i*= 12 classi; classe 1 ≤ 30; 30 < classe 2 ≤ 60; 60 < classe 3 ≤ 90; 90 < classe 4 ≤ 120; 120 < classe 5 ≤ 150; 150 < classe 6 ≤ 180; 180 < classe 7 ≤ 210; 210 < classe 8 ≤ 240; 240 < classe 9 ≤ 270; 270 < classe 10 ≤ 300; 300 < classe 11 ≤ 330; classe 12 > 330);
- ordine di parto_{*j*} è l'effetto fisso del *j*-esimo ordine di parto (*j*= 4 classi; classe 1= primipare; classe 2= secondipare; classe 3= terzipare; classe 4 ≥ 4 parti);
- produzione totale_{*k*} è l'effetto fisso della *k*-esima classe di resa in latte (*k*=4 classi divise secondo il 25°, 50° e 75° percentile)
- data/allevamento_{*l*} è l'effetto random della *l*-esima classe di herd/date (*l*= da 1 a 15)
- e_{ijklm} è l'effetto residuo casuale. Sia l'effetto random che residuo sono stati considerati come normalmente distribuiti.

Gli effetti sono stati considerati significativi a $P < 0,05$. Sono state eseguite regressioni lineari e quadratiche per descrivere il pattern di variazione dei minerali ricercati nel latte.

4- RISULTATI

4.1 Analisi descrittiva del profilo minerale

Nella tabella 1 è illustrato l'insieme delle statistiche descrittive del campione di popolazione studiato.

Tabella 1. Statistiche descrittive della produzione e composizione del latte e del profilo minerale del latte espresso come mg/kg di latte

Variabili	N	Media	SD	CV	P1 ¹	P99 ¹
Produzione di latte, kg/d	1,008	32,85	9,38	0,29	5,55	56,23
Composizione del latte						
Grasso, %	1,012	3,77	0,77	0,20	1,74	5,69
Proteina, %	1,012	3,42	0,37	0,11	2,71	4,29
Caseina, %	1,012	2,68	0,28	0,10	2,09	3,43
Lattosio, %	1,012	4,87	0,24	0,05	4,06	5,29
Macrominerali, mg/kg di latte						
Ca	1.001	1.159,4	179,9	0,16	771,8	1.670,6
Mg	1.009	98,38	16	0,16	66,62	137,5
P	994	939,9	169,2	0,18	615,3	1.463,4
K	997	1.430,6	206	0,14	1.032,5	2.079,5
Na	995	344	98,5	0,29	215,67	676,5
S	1003	304,7	49,15	0,16	208,8	450,4
Microminerali essenziali, mg/kg di latte						
Cu	654	0,059	0,028	0,47	0,02	0,141
Fe	1.007	0,319	0,194	0,61	0,128	1,23
Mn	881	0,024	0,007	0,29	0,011	0,045
Zn	98	4,1	0,86	0,21	2,21	6,25
Microminerali ambientali, mg/kg di latte						
Al	872	0,12	0,082	0,68	0,017	0,349
B	997	0,233	0,075	0,32	0,067	0,434
Ba	710	0,05	0,025	0,50	0,015	0,141
Cr	217	0,036	0,01	0,28	0,014	0,073
Sr	1.005	0,428	0,105	0,25	0,221	0,712
Ti	483	0,022	0,011	0,50	0,012	0,063

¹P1 = 1° percentile; P99 = 99° percentile.

Nelle bovine campionate la produzione di latte è risultata essere mediamente di $32,85 \pm 9,38$ kg/d con un coefficiente di variabilità pari a 0,29. La composizione riferita ai macro-costituenti è abbastanza stabile; la percentuale di grasso è risultata essere di $3,77 \pm 0,77$, quella della proteina di $3,42 \pm 0,37$, quella della caseina di $2,68 \pm 0,28$ e la percentuale di lattosio è risultata essere di $4,87 \pm 0,24$ con un coefficiente di variabilità che varia tra 0,05 a 0,20.

All'analisi quantitativa dei minerali sono stati analizzati 32 minerali ma solo 16 hanno superato il LOD e sono quindi stati analizzati, mentre gli altri sono stati scartati e non sono stati riportati nello

studio. Tra quelli studiati si annoverano il Ca, Mg, P, K, Na e S tra i macrominerali; Cu, Fe, Mn, Zn tra i microminerali essenziali per il vivente e nei microminerali ambientali si trovano Al, B, Ba, Cr, Sr e Ti. Non tutti i minerali hanno la stessa stabilità nelle varie rilevazioni; infatti, tra le varie categorie e anche all'interno di esse può esistere un ampio range di variazione. Se confrontiamo i macrominerali con le altre due categorie, questi sono risultati poco variabili con un coefficiente di variazione che fluttua tra 0,14 e 0,29. I microminerali essenziali e ambientali hanno mostrato una variabilità elevata: il coefficiente di variazione nei primi sta tra 0,21 e 0,61 mentre nei contaminati questo varia tra 0,25 e 0,68.

4.2 Descrizione e risultati dell'analisi della varianza

I risultati dell'analisi della varianza (ANOVA) sono riportati in tabella 2.

Tabella 2. Risultati dell'analisi statistica (*F*-value e *P*-value) del profilo minerale del latte

Traits	Ordine di parto ¹		Giorni di lattazione ²		Produzione totale (kg/d) ³		Data/allevamento ⁴
	<i>F</i> -value	<i>P</i> -value	<i>F</i> -value	<i>P</i> -value	<i>F</i> -value	<i>P</i> -value	%
Macrominerali (mg/kg di latte)							
Ca	8,79	<0,001	1,52	0,12	5,72	<0,001	40
P	20,49	<0,001	2,71	0,002	5,42	<0,001	59
S	8,96	<0,001	3,53	<0,001	16,77	<0,001	50
Mg	3,66	<0,001	5,66	<0,001	18,30	<0,001	32
K	8,57	<0,001	8,06	<0,001	5,62	<0,001	56
Na	47,59	<0,001	3,57	<0,001	21,44	<0,001	40
Microminerali essenziali (mg/kg di latte)							
Zn	9,77	<0,001	2,84	0,001	0,84	0,47	29
Fe	0,57	0,63	0,67	0,77	1,68	0,17	37
Cu	2,49	0,06	3,21	<0,001	0,65	0,58	12
Mn	0,68	0,56	7,90	<0,001	4,67	0,003	4
Microminerali ambientali (mg/kg di latte)							
Al	0,54	0,65	1,05	0,40	0,40	0,75	55
Sr	2,97	0,03	4,76	<0,001	1,15	0,33	38
B	15,80	<0,001	5,13	<0,001	11,01	<0,001	70
Ba	2,94	0,03	4,81	<0,001	0,16	0,92	4
Cr	0,41	0,75	1,14	0,33	0,36	0,78	39
Ti	5,11	0,002	2,11	0,02	2,18	0,09	0,3

¹ L'ordine di parto è costituito da 4 classi: classe 1 =1; classe 2 = 2; classe 3 =3; classe 4 >3

² I giorni di lattazione sono costituiti da 12 classi: classe 1 ≤ 30; 30 < classe 2 ≤ 60; 60 < classe 3 ≤ 90; 90 < classe 4 ≤ 120; 120 < classe 5 ≤ 150; 150 < classe 6 ≤ 180; 180 < classe 7 ≤ 210; 210 < classe 8 ≤ 240; 240 < classe 9 ≤ 270; 270 < classe 10 ≤ 300; 300 < classe 11 ≤ 330; classe 12 > 330

³ La produzione è costituita da 4 classi che rappresentano i quattro quartili

⁴ L'effetto data/allevamento è espresso come una percentuale di varianza spiegata dalla data di campionamento e dall'allevamento; è calcolato come rapporto tra la varianza corrispondente e quella totale
I valori evidenziati in grassetto sono quelli risultati significativi ($P < 0,05$)

4.2.1 Descrizione effetto data/allevamento

Come riportato nella tabella 2, la variabilità spiegata dal fattore data/allevamento varia molto a seconda del minerale considerato e in generale questi valori sono risultati abbastanza elevati. Tra i macrominerali l'effetto data/allevamento varia in maniera abbastanza importante, avendo un minimo di 32% e raggiungendo un massimo di 59%. Anche i microminerali essenziali presentano una variazione in un range compreso tra il 4% e il 37%. I contaminanti invece, sono quelli che presentano il maggior intervallo di variazione che fluttua tra 0.3% del Ti e arriva fino al 70% del B.

4.2.2 Descrizione dell'effetto ordine di parto, giorni di lattazione e produzione

La composizione dei minerali nel latte non è fissa ma varia in base a diversi fattori che determinano un cambiamento della concentrazione degli elementi minerali tra capi ed entro capo. In questo studio sono state analizzate le variazioni dei minerali a carico di tre fattori di variazione della composizione durante la lattazione o lungo la vita dell'animale; ordine di parto, giorni di lattazione e produzione di latte. In tabella 2 è evidenziata o meno la presenza di una relazione tra il singolo minerale e il fattore di variazione considerato; solo le relazioni statisticamente significative ($P \leq 0,05$) saranno considerate e studiate.

I macrominerali

Prendendo in considerazione i macrominerali, la loro variazione è risultata per la quasi totalità altamente significativa per tutti i fattori studiati. Solo per il Ca non è risultato significativo l'effetto dei giorni di lattazione. Considerando l'ordine di parto (Figura 6a), il Ca ha un andamento quadratico: dal primo al terzo parto il minerale diminuisce significativamente ($P < 0,001$) per poi aumentare negli animali più vecchi con più di tre parti. Invece, all'aumentare della produzione il Ca diminuisce significativamente ($P < 0,001$) in maniera lineare (Figura 6d). Per il P (Figura 6b), all'aumentare dell'ordine di parto il minerale diminuisce significativamente ($P < 0,001$), dapprima più rapidamente per poi rimanere più stabile dal terzo parto in poi. All'aumentare della produzione la concentrazione del P (Figura 6e) cala significativamente ($P < 0,001$). In Figura 6g si può notare un andamento non lineare del P nel corso della lattazione, con un primo punto di minimo che si ha prima dei 60 gg di lattazione, poi la concentrazione cresce e ha un secondo punto di minimo appena dopo metà lattazione per poi rimanere abbastanza stabile ($P = 0,002$). Per il Mg, all'aumentare del numero

di parti (Figura 6c) il minerale diminuisce significativamente ($P < 0,001$) fino al terzo parto per poi mantenersi costante con il proseguire delle lattazioni. Come per l'ordine di parto, all'aumentare della produzione il Mg (Figura 6f) diminuisce significativamente ($P < 0,001$), con la quarta classe che risulta quasi in linea con la precedente. All'aumentare dei giorni di lattazione il Mg (Figura 6h) aumenta significativamente ($P < 0,001$) anche se non in maniera lineare, presentando un evidente punto di minimo nella seconda classe.

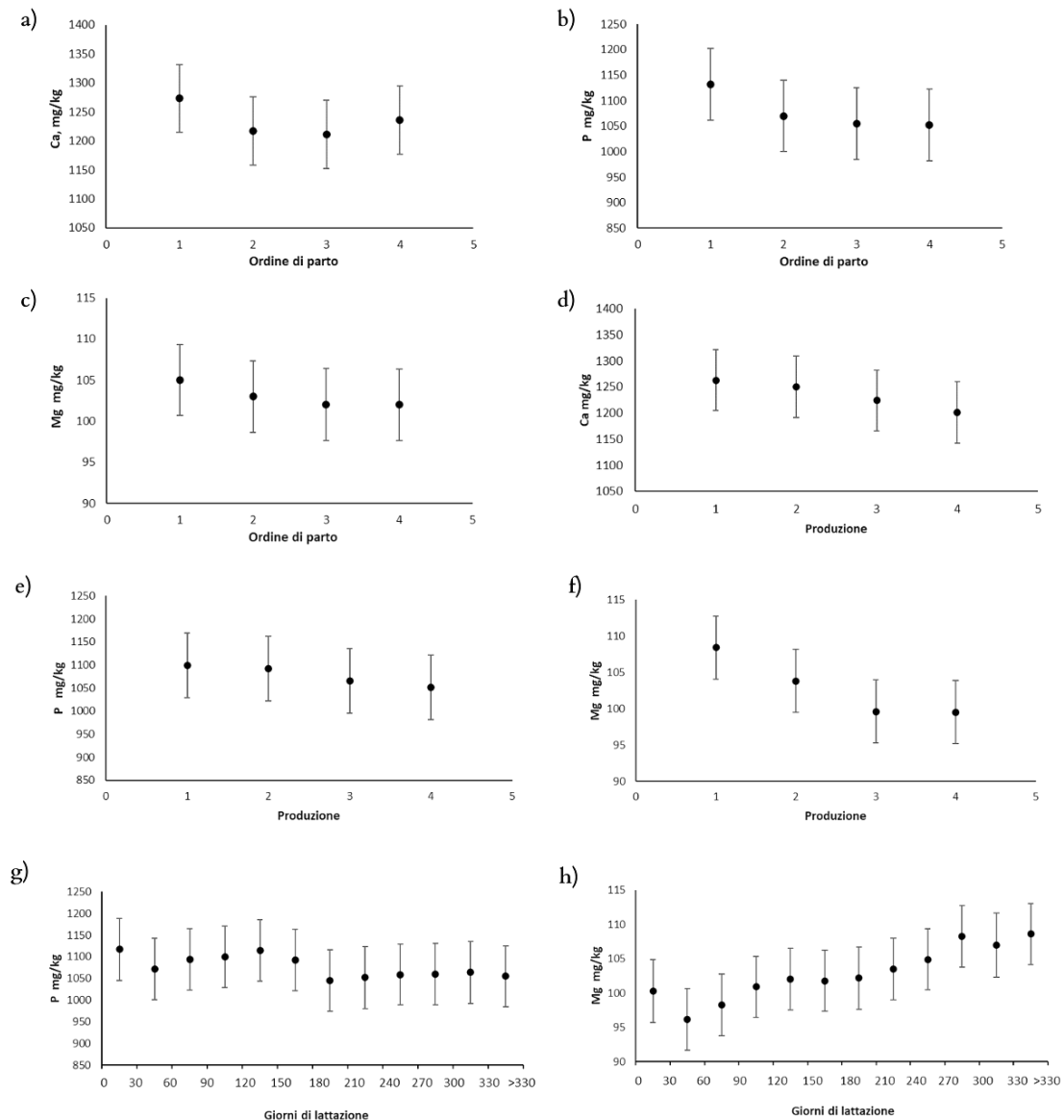


Figura 6. Medie dei minimi quadrati ed errore standard di Ca, P e Mg contenuti nel latte al variare di ordine di parto, giorni di lattazione e produzione

Studiando lo S, all'aumentare dell'ordine di parto (Figura 7a) il minerale decresce significativamente ($P < 0,001$). Anche se non in modo lineare, all'aumentare dei giorni di lattazione (Figura 7d) lo S aumenta significativamente ($P < 0,001$), mentre in Figura 7g si può notare che all'aumento di produzione lo S diminuisce significativamente ($P < 0,001$). Prendendo in considerazione il K, all'aumentare dell'ordine di parto (Figura 7b) il minerale diminuisce in modo significativo ($P <$

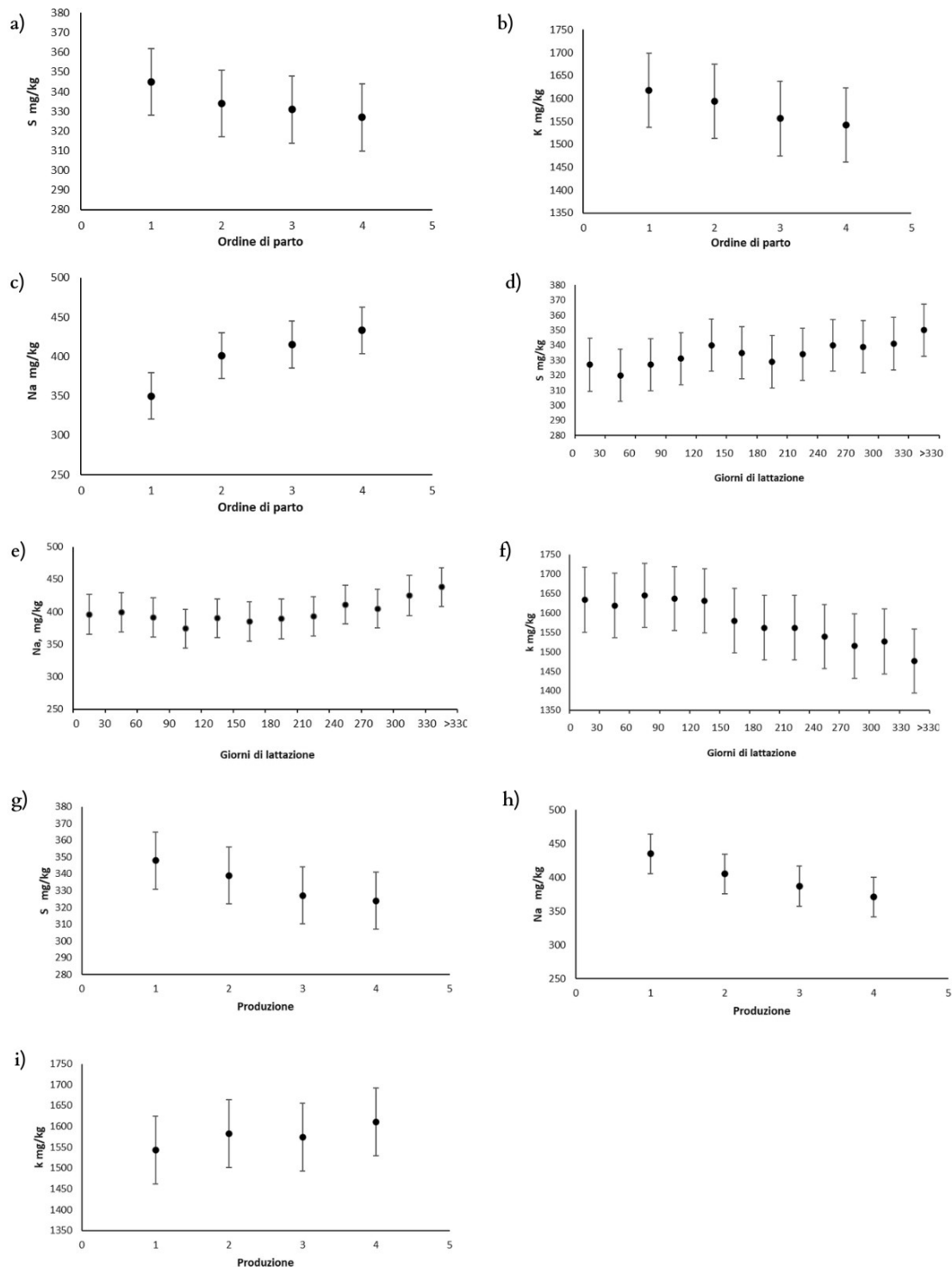


Figura 7. Medie dei minimi quadrati ed errore standard di S, P e Na contenuti nel latte al variare di ordine di parto, giorni di lattazione e produzione.

0,001). Anche per i giorni di lattazione (Figura 7f) il K diminuisce significativamente ($P < 0,001$). Quest'ultimo andamento vede una prima fase quasi costante, che racchiude le prime 5 classi, e una seconda fase di netta decrescita. Al contrario, in Figura 7i si evidenzia una crescita significativa del K all'aumentare della produzione ($P < 0,001$). Come ultimo macrominereale, il Na (Figura 7c) mostra una crescita significativa ($P < 0,001$) all'aumentare del numero di parti. Con la crescita del numero di giorni di lattazione (Figura 7e) il sodio mostra un andamento quasi costante ma statisticamente la crescita è significativa ($P < 0,001$). Al contrario, con l'aumentare della produzione (Figura 7h) il Na diminuisce significativamente ($P < 0,001$).

I microminerali essenziali

I microminerali essenziali analizzati, al contrario dei macrominerali, si sono dimostrati molto meno dipendenti dai fattori di variazione presi in considerazione. Dove la significatività è presente è anche molto importante, ma negli altri casi le variazioni che si hanno nella composizione del latte non sono da assogettare ai fattori che stiamo studiando. All'aumentare della produzione (Figura 8a) il Mn decresce significativamente ($P = 0,003$) mentre all'aumentare dei giorni di lattazione (Figura 8e) il Mn cresce significativamente ($P < 0,001$). Prendendo in considerazione lo Zn, all'aumentare del numero di parti (Figura 8b) il minerale mostra una riduzione significativa della sua concentrazione ($P < 0,001$). Per quanto riguarda i giorni di lattazione, lo Zn non ha un andamento lineare ben definito anche se la sua tendenza è quella di aumentare lungo la lattazione. La relazione che sussiste tra il minerale e i giorni di lattazione (Figura 8c) è significativa ($P = 0,001$), l'andamento è quadratico nella prima metà di lattazione con un punto di minimo prima dei 90 gg per poi proseguire con la seconda metà di lattazione con andamento abbastanza stabile. Studiando il Cu, in Figura 8d si può notare che all'aumentare dei giorni di lattazione il minerale diminuisce significativamente ($P < 0,001$), anche se non con andamento del tutto lineare.

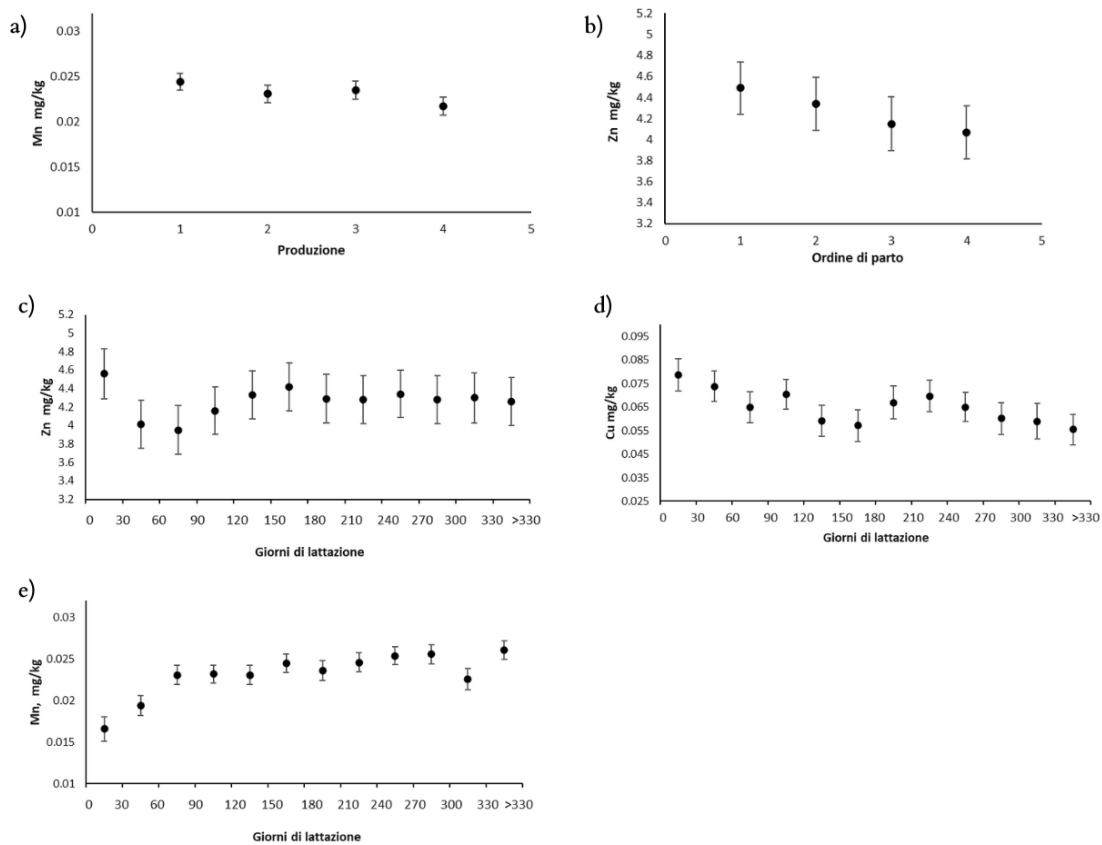


Figura 8. Medie dei minimi quadrati ed errore standard di Zn, Cu e Mn contenuti nel latte al variare di ordine di parto, giorni di lattazione e produzione.

I microminerali ambientali

Come per quelli essenziali, anche i microminerali ambientali manifestano poche significatività ai fattori di variazione. Studiando il B, all'aumentare della produzione il B (Figura 9a) aumenta significativamente ($P < 0,001$). Al contrario, all'aumentare dell'ordine di parto (Figura 9c) il minerale diminuisce significativamente ($P < 0,001$). All'aumentare dei giorni di lattazione il B decresce significativamente ($P < 0,001$), questo dopo aver segnato una fase di crescita rapida tra la prima e la seconda classe. Considerando lo Sr, la relazione che sussiste tra il minerale e l'ordine di parto (Figura 9b) è significativa ($P = 0,03$) e presenta una concentrazione minima al secondo parto per poi crescere con il proseguire dei parti. Nel complesso, la tendenza dello Sr è quella di diminuire all'aumentare dell'ordine di parto. In Figura 9g si evidenzia una decrescita significativa ($P < 0,001$) dello Sr all'aumentare dei giorni di lattazione. La relazione che lega il Ba all'ordine di parto (Figura 9d) è significativa ($P = 0,03$) mostrando un andamento che risulta stabile durante l'avanzare dei parti. Un piccolo flesso si ha durante il secondo parto quando la concentrazione è minore rispetto alle altre lattazioni. Invece, con l'aumentare dei giorni di lattazione (Figura 9h) il Ba decresce significativamente ($P < 0,001$). Come ultimo minerale analizzato, il Ti (Figura 9e) mostra una

relazione significativa con l'ordine di parto ($P = 0,002$). L'andamento è quadratico con una fase di decrescita fino al terzo parto e poi una leggera crescita dal quarto parto in poi. All'aumentare dei giorni di lattazione il Ti (Figura 9i) decresce significativamente ($P = 0,02$) anche se non in modo del tutto lineare.

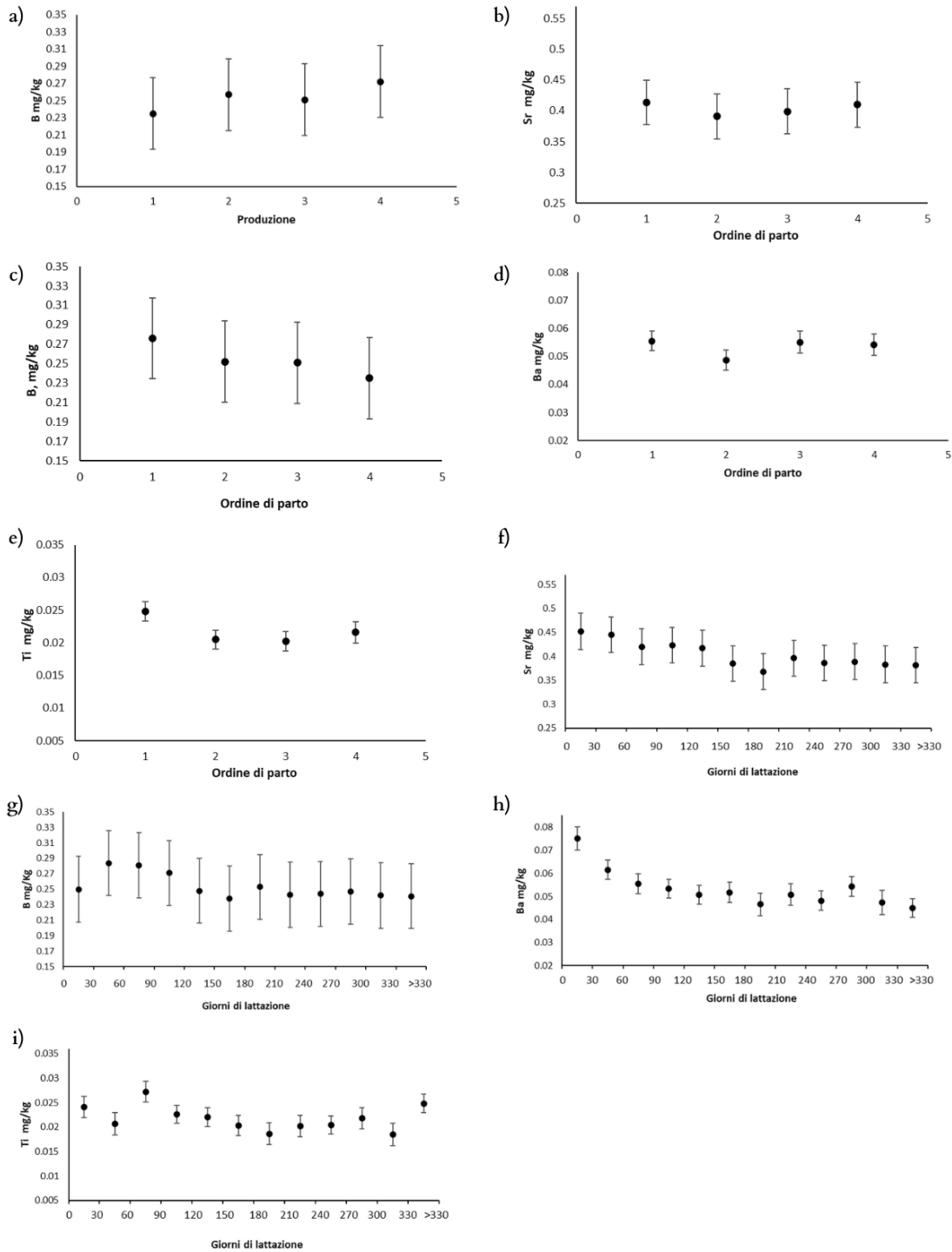


Figura 9. Media dei minimi quadrati ed errore standard di Sr, B, Ba e Ti contenuti nel latte al variare di ordine di produzione, ordine di parto e giorni di lattazione.

5- DISCUSSIONE

5.1 Caratterizzazione del campione di animali e latte analizzato

I fattori di variazione che influenzano il contenuto di minerali nel latte sono diversi e possono essere sia di natura aziendale che ambientale (Gulati et al., 2018; Manuelian et al., 2018; Stocco et al., 2019), per cui il profilo minerale è normalmente soggetto ad un ampio range di variazione (Foroutan et al., 2019). I minerali sono un'importante componente della dieta di tutti i viventi e sono indispensabili per il corretto funzionamento dell'intero metabolismo e possono essere usati anche come fonte di controllo dello stato di salute dell'animale (Nogalska et al., 2020; Summer et al., 2009b). Per questi motivi, conoscere le fluttuazioni di concentrazione degli elementi minerali è molto importante per un migliore controllo dell'animale sotto diversi punti di vista. Con questo lavoro di tesi si è voluto analizzare il profilo minerale del latte in bovine clinicamente sane di razza frisona, concentrandosi sullo studio degli effetti delle principali fonti di variazione individuali, ovvero giorni di lattazione, ordine di parto e la produzione di latte per animale.

Le bovine campionate erano tutte di razza frisona, per cui non è stato considerato il fattore di variazione del profilo minerale legato alla razza, descritto invece in molti studi come altamente significativo (Manuelian et al., 2018; Stocco et al., 2019). In letteratura pochi studi si sono occupati di studiare la variazione del profilo minerale in base ai fattori presi in considerazione in questo elaborato (giorni di lattazione, ordine di parto e produzione). Sono state studiate le differenze di profilo minerale tra varie razze e/o incroci (Manuelian et al., 2018; Stocco et al., 2019), zone geografiche (Zwierzchowski & Ametaj, 2018), e razioni alimentari. Anche l'ereditabilità di diversi minerali è stata oggetto di studio (Visentin et al., 2019), ma per i fattori da noi considerati, soprattutto per quanto riguarda i microminerali, la letteratura è piuttosto povera.

Altro fattore da tenere in considerazione sono la metodica e le procedure di analisi del latte. Per una determinazione più rapida e meno costosa rispetto all'uso della spettrometria ad emissione al plasma molte volte ci si basa sull'uso della spettroscopia nel medio-infrarosso che però è considerata una misura indiretta perché utilizza un modello previsionale e quindi è leggermente meno precisa e più difficilmente comparabile con il nostro lavoro.

La popolazione studiata è rappresentata da 1.013 animali provenienti da cinque allevamenti diversi. Un campione così ampio di vacche è da considerarsi molto affidabile perché un elevato numero di capi tende ad ridurre l'incidenza degli effetti dovuti al singolo animale fornendo un modello di variazione dei minerali più accurato e preciso in base ai fattori studiati.

Il latte delle vacche campionate ha mostrato un valore medio di cellule somatiche espresse come SCS pari a $2,57 \pm 1,82$ (Diana Giannuzzi et al., n.d.) che corrispondono circa a 90.000 cell/ml. Il valore di cellule somatiche riscontrato è risultato simile a valori trovati in altri studi (Pegolo et al., 2021; Stocco et al., 2019). I valori medi di produzione di latte ($32,85 \pm 9,38$ kg/d) e composizione percentuale in grasso ($3,77 \pm 0,77$), proteina ($3,42 \pm 0,37$), caseina ($2,68 \pm 0,28$) e lattosio ($4,87 \pm 0,24$), così come i relativi coefficienti di variabilità, sono risultati concordi a quanto riportato negli studi e analisi più recenti riferiti a vacche di razza frisona sia italiane che non (Jahnel et al., 2023; Moore et al., 2023; Pegolo et al., 2021; Piazza et al., 2023). In accordo con Stocco et al. (2019) il gruppo di bovine studiate possiede un alto livello di produzione, tenendo conto che appartengono anche a una razza specializzata nella produzione di latte, e sulla base del basso contenuto di cellule somatiche gli animali possono essere considerati in un ottimo stato di salute dal punto di vista della mammella.

5.2 Caratterizzazione del profilo minerale

Il profilo minerale del latte è storicamente una componente che viene ritenuta abbastanza stabile e che quindi non subisce più di tante oscillazioni (F. Gaucheron, 2005). Tuttavia, in questo studio come anche nei più recenti studi in materia si è visto che le variazioni possono essere anche importanti (Šimun Zamberlin et al., 2012; Zwierzchowski & Ametaj, 2018). I macrominerali, con un coefficiente di variazione che varia tra 0,14 e 0,29, sono risultati abbastanza stabili e in linea con quanto riportato in altri studi (Saha et al., 2021; Stocco et al., 2019). I microminerali invece, con un coefficiente di variazione che oscilla tra 0,21 e 0,68, sono risultati molto più variabili. Valori così elevati sono riportati anche da Denholm et al. (2019) e Stocco et al. (2019). Tanti sono i fattori che possono portare ad ampliare il range in cui i minerali si presentano all'interno del latte, rendendo difficile anche il loro studio. In generale però i microminerali sono gli elementi che variano di più perché dipendono molto dai fattori non legati all'individuo come ambiente ed alimentazione, al contrario dei macrominerali che sono più legati a fattori individuali (es. genetica) (Denholm et al., 2019).

Il contenuto medio di minerali riscontrato in questo studio è abbastanza in linea con quanto già trovato in altri lavori di ricerca (Denholm et al., 2019; NASEM, 2021; Saha et al., 2021; Stocco et al., 2019), anche se ci sono alcune differenze da riportare.

La quantità di K rilevata (1.430,6 mg/kg) è nettamente inferiore rispetto a quanto riportato in letteratura: Denholm et al. (2019; 1.774,39 mg/kg), van Hulzen et al (2009; 1.612,36 mg/kg), Visentin et al. (2019; 1.684,48 mg/kg). La letteratura è carente di informazioni riguardo le possibili cause di questa variazione. Sasser et al., (1966) riporta che la composizione della dieta non influisce sul

contenuto di K nel latte, cioè anche a seguito di variazioni importanti nelle quantità ingerite dall'animale il minerale resta sostanzialmente stabile nel latte. Questo però non esclude possibili variazioni nella concentrazione del minerale, attribuibili quindi a differenze genetiche e non tra i singoli animali.

E' stato riscontrato un contenuto di Na medio di 344 mg/kg di latte che si discosta da altri valori riportati in letteratura. Diversi sono gli studi in cui il valore di sodio è maggiore di quello citato: 401 mg/kg (Saha et al., 2021), 437,4 mg/kg (Manuelian et al., 2018), 439 mg/kg (Visentin et al., 2019). Stocco et al. (2019), con simili condizioni di produzione e di salute dell'animale, riporta un valore (334 mg/kg) in linea con quanto trovato nella presente ricerca. NASEM (2021) riporta un valore di 410 mg Na/kg che è inferiore di quasi il 40% rispetto a quanto riportato nella precedente edizione (NRC, 2001). Come già descritto, il Na è legato allo stato infiammatorio della mammella, in uno stato di mastite o di alto contenuto di cellule somatiche la concentrazione del minerale aumenta. La continua ricerca ed evoluzione di tecniche di gestione migliori della stalla, per quanto riguarda la sanità della ghiandola mammaria, ha portato negli ultimi decenni ad una notevole riduzione del Na nel latte.

La concentrazione di Cu riscontrata (0,059 mg/kg) risulta essere decisamente minore rispetto a quanto riportato da Saha et al. (2021; 0,081 mg/kg) e da Denholm et al. (2019; 0,121 mg/kg). Questa variazione è da imputare a specifiche condizioni individuali e della dieta, come suggerito anche da Cashman (2011b). Si denota la facilità con cui può cambiare la concentrazione del minerale nel latte solo variando la presenza del Cu nella dieta.

Come il Cu, anche la concentrazione del Fe (0,319 mg/kg) è molto minore rispetto a quanto riportato da Denholm et al. (2019; 1,077 mg/kg). Al contrario Stocco et al. (2019) e Saha et al. (2021) hanno rilevato una concentrazione minore, rispettivamente di 0,237 mg/kg e 0,285 mg/kg. Il Fe nel latte non è molto sensibile ai cambiamenti nella dieta nell'animale (Cashman, 2011b), ma è conosciuta la sua tendenza a variare a seguito di contaminazioni (Flynn, 1992). Oltre a questi fattori, le variazioni possono essere imputate anche a oscillazioni individuali.

In questo studio sono stati riscontrati valori minori di B (0,233 mg/kg) rispetto Saha et al. (2021; 0,393 mg/kg) e Cashman et al. (2011b; 0,5-1 mg/kg); inoltre il contenuto di stronzio (0,428 mg/kg) è maggiore di quanto trovato da Stocco et al. (2019; 377 mg/kg).

Nei microminerali, e soprattutto in quelli ambientali, l'effetto dell'ambiente incide molto sulla loro presenza nel latte. Come descritto ampiamente da Zwierzchowski et al. (2018), l'ambiente incide sotto forma di dieta, di biodisponibilità dei sali negli alimenti assunti e dell'acqua di abbeverata.

Inoltre, anche le differenze tra le diverse razze e i singoli individui possono portare ad ampliare il range di variazione dei minerali. Trovare una causa univoca e determinante è complicato; quindi, possiamo concludere che i fattori che entrano in gioco sono molteplici e portano al cambiamento del profilo in piccola percentuale se considerati singolarmente o in unione con altri elementi.

5.3 Effetto data e allevamento

L'effetto data-allevamento è la variabile che è stata inserita nel modello per spiegare le variazioni che non avvengono a carico degli effetti studiati, ma che non sono nemmeno identificabili come errore residuo. All'interno di questo valore, singolo per ogni minerale studiato, si trovano le alterazioni del dato dovute al diverso tipo di allevamento campionato e quelle dovute alla diversa data di campionamento all'interno della stessa azienda o in aziende diverse. Tra allevamenti diversi può cambiare il tipo di management, la stabulazione degli animali, la composizione della dieta (utilizzo o meno di insilati, distribuzione tramite razione unica, utilizzo di foraggi estivi) o anche la qualità della stessa (quantità e qualità dell'amido, fibra più o meno digeribile, foraggi più o meno ricchi in nutrienti) (Stocco et al., 2017). La data di campionamento è significativa soprattutto all'interno della stessa azienda dove il diverso periodo influenza i foraggi utilizzati per l'alimentazione, che non sono gli stessi durante tutto l'anno, e il clima, che mette in una diversa condizione gli animali portandoli in uno stato di stress più o meno accentuato. I valori di data-allevamento trovati in questo studio sono risultati abbastanza elevati, anche su macrominerali dove ci si aspetterebbe una relativa stabilità di concentrazione (risultati in tabella 2). Stocco et al. (2019) riporta valori riferiti a macrominerali e microminerali essenziali racchiusi per la quasi totalità al di sotto del 40%, al contrario di quanto trovato per quelli ambientali i cui valori sono risultati molto elevati, raggiungendo fino il 90% di variabilità spiegata da quest'effetto all'interno della classe di produttività. Anche van Hulzen et al. (2009), nel loro ampio studio genetico costituito da 1.948 vacche di razza frisona olandese, riporta valori molto contenuti compresi tra il 13% e 25% riferiti all'effetto allevamento per Ca, P, K, Zn e Mg. Probabilmente questa grande differenza di valori è attribuibile in maggiore misura all'effetto data visto il grande numero di prelevamenti in giorni diversi (n=15). Negli studi appena citati viene sempre discusso l'effetto che l'allevamento conferisce alla variabilità dei dati ma non viene mai portato in luce quello che può essere relativo alla data.

Comunque, anche per minerali che sono legati ad altre componenti del latte come Ca, P, Mg e quindi dovrebbero avere una varianza legata più a fattori genetici che ambientali, il valore riscontrato è stato elevato. Questo significa che, in questo particolare caso di studio, l'allevamento e la data di campionamento hanno un importante effetto su quella che può essere la concentrazione di minerale

nel latte. Per i microminerali ambientali invece, i valori elevati trovati (fino al 70% nel caso del B) sono paragonabili con quanto osservato in precedenti studi (Stocco et al. (2019)). Sempre nell'ultimo studio citato vengono anche descritte le cause di questa possibile influenza dell'allevamento sulla concentrazione dei minerali ambientali. Queste sono da attribuire maggiormente alla diversa composizione dei foraggi utilizzati, alla loro provenienza e quindi alle caratteristiche dei suoli dove sono stati coltivati e non meno importante è il contenuto di minerali delle acque di abbeverata.

Da evidenziare è il basso effetto che data e allevamento hanno su Mn (4%), Ba (4%) e Ti (0,3%) al contrario di quanto appena detto e quindi di quanto ci si aspetterebbe. Una probabile spiegazione è un possibile basso contenuto di questi minerali nei foraggi che nel tempo e tra i diversi allevamenti non causano oscillazioni degne di nota. In particolare, per il Mn, l'assorbimento con la dieta è particolarmente ridotto e pari a 2 mg Mn/kg di sostanza secca (NRC 2005). Quindi, se il contenuto negli alimenti non raggiunge questa soglia e si mantiene costante, è possibile che non si riscontrino molte variazioni dovute a questo effetto.

5.4 Effetto ordine di parto, giorni di lattazione e produzione

Prendendo spunto dalla tabella 2 già descritta e con l'aiuto delle figure riportate in seguito descriviamo quanto questo studio ha portato alla luce.

In generale, l'andamento dei minerali varia molto in funzione dell'ordine di parto con una decrescita più evidente della concentrazione, soprattutto tra la prima e le successive lattazioni, con alcune eccezioni come, ad esempio, il sodio che con l'aumentare dei parti vede un progressivo aumento della propria quantità. Le variazioni a carico dei minerali che avvengono sotto influenza dei vari effetti sono corrette tra di loro nel modello; quindi, il valore che troviamo dovrebbe essere pressoché puro senza influenze esterne. Questo però non è da ritenere totalmente vero perché comunque un andamento che si riscontra in un effetto può essere lo specchio dello stato fisiologico in cui si trova l'animale. Durante il picco di lattazione, solitamente tra i 60 e 90 gg, l'animale arriva a produrre la massima quantità di latte e quindi, più prodotto c'è, maggiore sarà la quantità di singolo nutriente che si produrrà in un giorno. Per cui anche se il fattore giorni di lattazione è corretto per la produzione, intorno alla terza classe di giorni di lattazione si può riscontrare un picco nella concentrazione del minerale che però è dovuto alla maggior produzione. Questo però non è sempre vero perché ricorrente è anche l'effetto diluizione del minerale. In generale, gli andamenti che visualizziamo nei minerali sono in accordo con i maggiori studi in materia, con alcune eccezioni anche importanti in alcuni minerali.

Il Ca, così come il P e il Mg, evidenzia una maggior concentrazione nel latte durante la prima lattazione per poi calare con il susseguirsi dei partì. Questo andamento corrisponde a quanto già trovato in studi precedenti (Manuelian et al., 2018; Visentin et al., 2018). Eccezione è l'andamento del Ca dal quarto parto in poi perché tende a crescere al contrario di quello riportato in letteratura dove la decrescita è lineare. Visentin et al. (2019), attraverso un'analisi con la tecnica del medio infrarosso di campioni di latte provenienti da 15.173 vacche di razza frisona, riporta un'ereditabilità del Ca di 0,54. Questo potrebbe spiegare probabilmente la differenza di andamenti del minerale tra gruppi diversi di animali. La differenza di concentrazione di minerale attraverso le lattazioni può essere la conseguenza della perdita di efficienza nell'uso del Ca da parte della mammella con l'avanzare dell'età (Kume & Tanabe, 1993). A questo si aggiunge il fatto che il sangue negli animali più vecchi contiene meno Ca perché la sua mobilitazione dalle ossa avviene in misura minore. Tutto questo può essere causato da una perdita di efficienza del paratormone che è un ormone chiave in questo processo di utilizzo del Ca di riserva. Si può notare che all'aumento della produzione dell'animale la quantità dei minerali decresce, anche in maniera importante. Stocco et al. (2019) ha analizzato campioni di latte derivanti da 240 animali appartenenti a 6 razze differenti con lo scopo di analizzare la variazione del profilo minerale in base al tipo di razza, ordine di parto, giorni di lattazione e produzione. L'effetto della produzione è stato notato da Stocco et al (2019) solo nei confronti del Ca e del Mg visto che la variazione del P non è risultata significativa. Le riduzioni della concentrazione rispecchiano molto bene la diluizione che avviene nel latte. Più l'animale produce e maggiori sono le difficoltà a trasferire nel latte i minerali in circolo e quindi la quantità cala.

L'andamento del P in funzione dei giorni di lattazione non è del tutto lineare ma nell'arco della lattazione la tendenza è a decrescere. Stocco et al. (2019) invece riporta un andamento crescente del P lungo la lattazione, quindi un andamento completamente opposto a quello trovato in questo studio. Sia Manuelian et al. (2018) che Visentin et al. (2018) hanno riscontrato una forte diminuzione del minerale dal parto fino all'incirca ai 60 giorni di lattazione e poi una continua crescita fino a fine lattazione.

Il Ca e il P nel latte non sono contenuti in forma di cationi semplici ma prevalentemente sotto forma di micelle di calcio fosfato dove la composizione, l'equilibrio termodinamico e la forma della micella può cambiare ampiamente (Gaucheron, 2013). Questi due minerali, il 66% per il Ca e 50% per il P, sono legati alla componente proteica del latte (Bijl et al., 2013), più nello specifico sono elementi fondamentali per la formazione della micella caseinica. Anche il Mg, nella sua componente colloidale, è strettamente legato alla micella caseinica per circa un terzo della sua quantità. Data la loro stretta relazione, le variazioni che avvengono a carico della proteina ricadono sulla concentrazione dei minerali che più strettamente sono legati. Il contenuto totale di proteina ma anche

il rapporto specifico che esiste tra le varie componenti della stessa cambia durante il corso della lattazione (Ostersen et al., 1997). In questo studio non è stata analizzata la variazione della proteina ma molto probabilmente le differenze nella concentrazione di questi minerali che si riscontrano attraverso la lattazione possono essere attribuite in parte ad una variazione del contenuto proteico (Toscano et al., 2023).

L'andamento del Mg invece, rispecchia quanto già riportato in letteratura, cioè un andamento crescente lungo tutta la lattazione. Il punto di minimo che si riscontra intorno alla seconda classe di giorni di lattazione, cioè al picco di lattazione, è la diretta conseguenza dell'andamento decrescente della quantità di minerale all'aumento di produzione.

L'andamento in relazione all'ordine di parto, decrescente per S e K e crescente per il Na, è in comune accordo con quanto già riportato in letteratura (Manuelian et al., 2018; Stocco et al., 2019; Visentin et al., 2018). I trend opposti di Na e K al crescere del numero di lattazioni può avere varie spiegazioni, ma probabilmente è la conseguenza dell'aumento del numero di cellule somatiche e quindi un aumento del rischio di mastite attraverso i parti. È risaputo che nel latte una maggiore concentrazione del sodio legato ad una diminuzione del contenuto di potassio è indice di mastite subclinica (Nogalska et al., 2020). Questi due cationi lavorano in antagonismo per mantenere costante il potenziale osmotico.

L'andamento dei tre minerali in funzione dei giorni di lattazione, crescente per S e Na e calante per il K, rispecchia quanto riportato nei precedenti studi. Come già descritto prima, al crescere del Na si riscontra una decrescita progressiva del K. Invece, al crescere della produzione, la concentrazione di S e Na decresce al contrario di quella del K che mostra una continua crescita. In Stocco et al. (2019) viene riportato un andamento opposto dello S rispetto a quanto trovato in questo studio, cioè gli animali più produttivi presentavano nel latte un contenuto di S maggiore rispetto a quelli meno produttivi. La ragione di questa variazione è sconosciuta ma probabilmente è attribuibile a differenze tra i vari gruppi di animali. Inoltre, Stocco et al. (2019) non ha riscontrato differenze significative nella concentrazione di Na e K tra animali con diverso livello produttivo, al contrario di quanto trovato in questo studio.

Curioso è il rapporto che sussiste all'interno dello stesso minerale tra andamento legato alla produzione e quello dei giorni di lattazione. Con l'aumentare dei giorni di lattazione, e quindi una minore produzione, S e Na aumentano la loro concentrazione e allo stesso tempo l'effetto della produzione è opposto, all'aumentare della stessa diminuisce la quantità di minerale. Stessa cosa succede per il K ma in maniera specchiata; questo rappresenta molto bene il fatto che, anche se gli effetti sono corretti, restano comunque legati tra di loro.

In figura 3 e 4 sono riportati rispettivamente gli andamenti dei microminerali essenziali e dei contaminanti. Partendo dall'effetto produzione è stato trovato significativo l'andamento solo per il Mn e il B, tutti gli altri minerali non sono legati alla quantità di latte prodotto e non presentano nessun effetto di diluizione o concentrazione. Stocco et al. (2019), nel cui studio vengono analizzati diversi microminerali anche se non tutti quelli del presente elaborato, riporta una significatività per la produzione solo per Cu e Zn. Riguardo all'ordine di parto, le differenze sostanziali trovate nei vari minerali riguardano le primipare con le pluripare, con le prime che presentano un maggior quantitativo di minerali rispetto alle seconde. Stocco et al. (2019) ha riscontrato una differenza significativa di concentrazione attraverso i parti solo riguardo il Cu, gli altri minerali non avevano andamenti particolari. Le differenze trovate in questo studio possono essere attribuite a diverse cause, anche perché i minerali appena analizzati sono microminerali e contaminanti; quindi, le fonti di contaminazione esterne possono alterare il dato trovato. Una delle cause più probabili però può essere il differente tipo di alimentazione e ingestione tra i diversi gruppi di animali. Infatti, in particolare in una stalla dove sono stati effettuati i prelievi (tabella 1 appendice), l'alimentazione degli animali al primo parto è differente da quelli pluripari. Questo fa sì che gli animali assumano differenti quantitativi di minerali dai diversi alimenti. Considerando l'effetto dei giorni di lattazione, i minerali mostrano un andamento decrescente con il proseguire della lattazione, ad eccezione del Mn che cresce. Questi risultati sono solo in parziale accordo con quanto viene riportato in letteratura (Stocco et al., 2019). I risultati di questo studio evidenziano un andamento decrescente del Cu al contrario di quanto trovato da Stocco et al (2019) dove il Cu dapprima ha una decrescita fino a metà lattazione per poi crescere fino a fine lattazione. Come altri minerali, il Cu è fortemente legato alle caseine del latte (Neville et al., 1995) e quindi le variazioni che avvengono a carico di questo elemento sono attribuibili anche a quelle della componente proteica. Anche l'andamento dello Zn è particolare, con una iniziale decrescita che termina con un punto di minimo all'incirca in corrispondenza del picco di lattazione e in seguito una fase di crescita che termina in modo stazionario. In Nogalska et al. (2020) viene riportata la maggiore concentrazione di minerale durante il primo mese di lattazione che cala però nei successivi mesi. La concentrazione dello Zn nel latte è correlata al numero di cellule somatiche: in presenza di una possibile infezione mammaria si riscontra un aumento del contenuto di minerale (Nogalska et al., 2020). Questo accade perché lo Zn è legato alle risposte immunitarie dell'animale e quindi la salute della mammella e lo stress che questa subisce a causa dall'alto livello produttivo degli animali odierni possono influenzare direttamente il contenuto e le oscillazioni dei minerali, in questo caso particolare dello Zn.

6- CONCLUSIONI

Con il presente progetto di tesi si è potuto determinare con precisione il profilo minerale del latte proveniente dalle varie bovine campionate. I minerali trovati nel latte sono diversi, ma quelli presenti in quantità rilevante e studiati sono 16 classificabili in macrominerali (Ca, P, Mg, K, Na, S), microminerali (Cu, Fe, Mn, Zn) e contaminanti (Al, B, Ba, Cr, Sr, Ti). Attraverso un modello lineare misto si sono potute in seguito rilevare le relazioni esistenti tra le variazioni dei vari minerali e le fonti di variazione presi in considerazione: ordine di parto, giorni di lattazione e produzione totale.

Diverse sono le associazioni che si sono potute riscontrare, considerando significative solo quelle con P-value <0,05. Come si poteva già ipotizzare, i macrominerali sono la categoria in cui gli effetti associativi si presentano maggiormente e quelli in cui possono essere spiegati maggiormente studiando il metabolismo dell'animale. Nei microminerali, invece, ci sono diverse relazioni che legano i minerali ai fattori di variazione, ma molti sono anche i casi in cui non c'è correlazione e le fluttuazioni che subisce il minerale non possono essere spiegate con i fattori presi in considerazione. Questo avviene soprattutto nei contaminanti dove l'influenza ambientale è la maggiore causa di variazione, a scapito della componente genetica. Tutto ciò rende difficoltoso lo studio dei vari movimenti e delle possibili variabili coinvolte.

È bene puntualizzare che la letteratura riguardante questo argomento è abbastanza povera, sono presenti alcuni studi interessanti ma non sono molti e inoltre trattano queste relazioni in maniera più superficiale e meno approfondita di quanto fatto in questa tesi. Per questo motivo il confronto tra i dati trovati e quelli presenti in letteratura a volte si è reso assai difficoltoso e a tratti poco coerente a causa dei diversi fattori investigati e delle diverse tecniche di analisi utilizzate.

Per concludere, interessante sarebbe uno sviluppo futuro di questo progetto finalizzato a uno studio più specifico e incentrato sui rapporti esistenti tra i minerali e lo stato sanitario dell'animale. Questo per continuare a ricercare metodi di monitoraggio e previsione rapida di patologie di cui gli animali possono essere affetti e che, se curate in modo tempestivo, risulterebbero meno impattanti sulla salute delle bovine. Le vacche campionate per questo progetto erano tutte sane, senza particolari patologie. Per questo non è stato possibile concentrarsi sui rapporti esistenti tra animale malato e concentrazione dei vari minerali.

BIBLIOGRAFIA e SITOGRAFIA

- Alessandro Fantini. (2012). IMPORTANTE-LANALISI-DELLA-CURVA-DI-LATTAZIONE. *L'Informatore Agrario*, 39.
- Ali, A. K. A., & Shook, G. E. (1980). An Optimum Transformation for Somatic Cell Concentration in Milk. *Journal of Dairy Science*, 63(3), 487–490. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(80\)82959-6](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(80)82959-6)
- Allen, V. G. (1984). Influence of Dietary Aluminum on Nutrient Utilization in Ruminants. *Journal of Animal Science*, 59(3), 836–844. <https://doi.org/10.2527/jas1984.593836x>
- Al-Nawaiseh, M., & Al-Rabadi, G. (2018). *Minerals composition of wells water and their contribution to mineral nutrition in dairy cattle: A possible approach in reducing soil salinity by reducing mineral content in manure.*
- Anderson, R. R. (1992a). Comparison of Trace Elements in Milk of Four Species. *Journal of Dairy Science*, 75(11), 3050–3055. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(92\)78068-0](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(92)78068-0)
- Anderson, R. R. (1992b). Comparison of Trace Elements in Milk of Four Species. *Journal of Dairy Science*, 75(11), 3050–3055. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(92\)78068-0](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(92)78068-0)
- BAILEY, C. B. (1977). INFLUENCE OF ALUMINUM HYDROXIDE ON THE SOLUBILITY OF SILICIC ACID IN RUMEN FLUID AND THE ABSORPTION OF SILICIC ACID FROM THE DIGESTIVE TRACT OF RUMINANTS. *Canadian Journal of Animal Science*, 57(2), 239–244. <https://doi.org/10.4141/cjas77-031>
- Batavani, R. A. (2007). *The effect of subclinical mastitis on milk composition in dairy cows* (Vol. 8, Issue 3).
- Bates, C. J., & Prentice, A. (1996). Vitamins, minerals and essential trace elements. In *Drugs and Human Lactation* (pp. 533–607). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-044481981-9/50026-6>
- Baynes, R., Bezwoda, W., Bothwell, T., Khan, Q., & Mansoor, N. (1986). The non-immune inflammatory response: Serial changes in plasma iron, iron-binding capacity, lactoferrin, ferritin and C-reactive protein. *Scandinavian Journal of Clinical and Laboratory Investigation*, 46(7), 695–704. <https://doi.org/10.3109/00365518609083733>
- Becker, R. , N. W. , & S. L. (1933). Effect of calcium-deficient roughage upon milk production and welfare of dairy cows. *Gainesville: University of Florida.*
- Besong, S., Jackson, J. A., Trammell, D. S., & Akay, V. (2001). Influence of Supplemental Chromium on Concentrations of Liver Triglyceride, Blood Metabolites and Rumen VFA Profile in Steers Fed a Moderately High Fat Diet. *Journal of Dairy Science*, 84(7), 1679–1685. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(01\)74603-6](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(01)74603-6)
- Bhasker, T. V., Gowda, N. K. S., Mondal, S., Krishnamoorthy, P., Pal, D. T., Mor, A., Bhat, S. K., & Pattanaik, A. K. (2016). Boron influences immune and antioxidant responses by modulating hepatic superoxide dismutase activity under calcium deficit abiotic stress in Wistar rats. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 36, 73–79. <https://doi.org/10.1016/j.jtemb.2016.04.007>
- Bhasker, T. V., Gowda, N. K. S., Pal, D. T., Bhat, S. K., & Pattanaik, A. K. (2015a). Boron profile in common feedstuffs used in tropical livestock systems. *Animal Feed Science and Technology*, 209, 280–285. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2015.08.003>
- Bhasker, T. V., Gowda, N. K. S., Pal, D. T., Bhat, S. K., & Pattanaik, A. K. (2015b). Boron profile in common feedstuffs used in tropical livestock systems. *Animal Feed Science and Technology*, 209, 280–285. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2015.08.003>

- Bijl, E., van Valenberg, H. J. F., Huppertz, T., & van Hooijdonk, A. C. M. (2013). Protein, casein, and micellar salts in milk: Current content and historical perspectives. *Journal of Dairy Science*, *96*(9), 5455–5464. <https://doi.org/10.3168/jds.2012-6497>
- Bradley, A. J. (2002). Bovine mastitis: An evolving disease. *Veterinary Journal*, *164*(2), 116–128. <https://doi.org/10.1053/tvjl.2002.0724>
- Bremner, I., & Dalgarno, A. C. (1973). Iron metabolism in the veal calf. The availability of different iron compounds. *British Journal of Nutrition*, *29*(2), 229–243. <https://doi.org/10.1079/BJN19730098>
- Breves, G., & Schröder, B. (1991). Comparative Aspects of Gastrointestinal Phosphorus Metabolism. *Nutrition Research Reviews*, *4*(1), 125–140. <https://doi.org/10.1079/nrr19910011>
- Buchanan, D. S. (2002). ANIMALS THAT PRODUCE DAIRY FOODS | Major Bos taurus Breeds. In *Encyclopedia of Dairy Sciences* (pp. 284–292). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-374407-4.00032-7>
- Burton, J. L., Mallard, B. A., & Mowat, D. N. (1993). Effects of supplemental chromium on immune responses of periparturient and early lactation dairy cows. *Journal of Animal Science*, *71*(6), 1532–1539. <https://doi.org/10.2527/1993.7161532x>
- Cashman, K. D. (2011a). *Macroelements, Nutritional Significance*.
- Cashman, K. D. (2011b). Milk Salts | Trace Elements, Nutritional Significance. In *Encyclopedia of Dairy Sciences* (pp. 933–940). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-374407-4.00358-7>
- Chang, X., & Mowat, D. N. (1992). Supplemental chromium for stressed and growing feeder calves. *Journal of Animal Science*, *70*(2), 559–565. <https://doi.org/10.2527/1992.702559x>
- Charles Alais. (2000). *Scienza del latte* (Tecniche nuove, Ed.; 3° edizione italiana).
- Cheung, P. C. K. (n.d.). *Handbook of Food Chemistry*.
- Davis, C. D., Wolf, T. L., & Greger, J. L. (1992). Varying Levels of Manganese and Iron Affect Absorption and Gut Endogenous Losses of Manganese by Rats. *The Journal of Nutrition*, *122*(6), 1300–1308. <https://doi.org/10.1093/jn/122.6.1300>
- Denholm, S. J., Sneddon, A. A., McNeilly, T. N., Bashir, S., Mitchell, M. C., & Wall, E. (2019). Phenotypic and genetic analysis of milk and serum element concentrations in dairy cows. *Journal of Dairy Science*, *102*(12), 11180–11192. <https://doi.org/10.3168/jds.2019-16960>
- Diana Giannuzzi, Alice Vanzin, Sara Pegolo, Alessandro Toscano, Vittoria Bisutti, Luigi Gallo, Stefano Schiavon, & Alessio Cecchinato. (n.d.). Novel insights into the associations between immune cell population distribution in mammary gland and milk minerals in Holstein cows. In *Revision on the Journal of Dairy Science*.
- Dijkstra, J., Ellis, J. L., Kebreab, E., Strathe, A. B., López, S., France, J., & Bannink, A. (2012). Ruminant pH regulation and nutritional consequences of low pH. *Animal Feed Science and Technology*, *172*(1–2), 22–33. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2011.12.005>
- Ebel, H., & Günther, T. (1980). Magnesium Metabolism: A Review. *Cclm*, *18*(5), 257–270. <https://doi.org/10.1515/cclm.1980.18.5.257>
- Edelman, I. S., James, A. H., Baden, H., & Moore, F. D. (1954). *ELECTROLYTE COMPOSITION OF BONE AND THE PENETRATION OF RADIOSODIUM AND DEUTERIUM OXIDE INTO DOG AND HUMAN BONE*.
- E.J. UNDERWOOD, & N.F. SUTTLE. (1999). *THE MINERAL NUTRITION OF LIVESTOCK 3rd Edition*.

- El Zubeir, I. E. M., Elowni, O. A. O., & Mohamed, G. E. (2005). Effect of mastitis on macro-minerals of bovine milk and blood serum in Sudan. *Journal of the South African Veterinary Association*, 76(1), 22–25. <https://doi.org/10.4102/jsava.v76i1.389>
- Elgersma, A., Ellen, G., Van Der Horst, H., Boer, H., Dekker, P. R., & Tamminga, S. (2004). Quick changes in milk fat composition from cows after transition from fresh grass to a silage diet. *Animal Feed Science and Technology*, 117(1–2), 13–27. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2004.08.003>
- Flynn, A. (1992). *Minerals and Trace Elements in Milk* (pp. 209–252). [https://doi.org/10.1016/S1043-4526\(08\)60106-0](https://doi.org/10.1016/S1043-4526(08)60106-0)
- Foroutan, A., Guo, A. C., Vazquez-Fresno, R., Lipfert, M., Zhang, L., Zheng, J., Badran, H., Budinski, Z., Mandal, R., Ametaj, B. N., & Wishart, D. S. (2019). Chemical Composition of Commercial Cow's Milk. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 67(17), 4897–4914. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.9b00204>
- Fox, P. F., & McSweeney, P. L. H. (1998). *Dairy chemistry and biochemistry*. Blackie Academic & Professional.
- Gaucheron, F. (2005). The minerals of milk. In *Reproduction Nutrition Development* (Vol. 45, Issue 4, pp. 473–483). <https://doi.org/10.1051/rnd:2005030>
- Gaucheron, F. (2013). Milk Minerals, Trace Elements, and Macroelements. In *Milk and Dairy Products in Human Nutrition: Production, Composition and Health* (pp. 172–199). John Wiley and Sons. <https://doi.org/10.1002/9781118534168.ch9>
- Gaucheron, F., L. G. Y. & S. P. (2004). *Equilibres minéraux et conditions physicochimiques*.
- Gerrit Smit. (2003). *Dairy Processing, Improving Quality* (Woodhead Publishing, Ed.).
- Giannuzzi, D., Toscano, A., Pegolo, S., Gallo, L., Tagliapietra, F., Mele, M., Minuti, A., Trevisi, E., Ajmone Marsan, P., Schiavon, S., & Cecchinato, A. (2022). Associations between Milk Fatty Acid Profile and Body Condition Score, Ultrasound Hepatic Measurements and Blood Metabolites in Holstein Cows. *Animals*, 12(9), 1202. <https://doi.org/10.3390/ani12091202>
- Goff, J. P. (1998). Phosphorus deficiency. In *Food Animal Practice*.
- Goff, J. P. (2008). The monitoring, prevention, and treatment of milk fever and subclinical hypocalcemia in dairy cows. *Veterinary Journal*, 176(1), 50–57. <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2007.12.020>
- Goff, J. P. (2018). Invited review: Mineral absorption mechanisms, mineral interactions that affect acid–base and antioxidant status, and diet considerations to improve mineral status. *Journal of Dairy Science*, 101(4), 2763–2813. <https://doi.org/10.3168/jds.2017-13112>
- Govindaraju, K., Ramasami, T., & Ramaswamy, D. (1989). Chromium(III)-insulin derivatives and their implication in glucose metabolism. *Journal of Inorganic Biochemistry*, 35(2), 137–147. [https://doi.org/10.1016/0162-0134\(89\)80006-6](https://doi.org/10.1016/0162-0134(89)80006-6)
- Grace, N. D., Ulyatt, M. J., & Macrae, J. C. (1974). Quantitative digestion of fresh herbage by sheep: III. The movement of Mg, Ca, P, K and Na in the digestive tract. *The Journal of Agricultural Science*, 82(2), 321–330. <https://doi.org/10.1017/S0021859600059219>
- Graham, T. W. (1991). Trace Element Deficiencies in Cattle. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*, 7(1), 153–215. [https://doi.org/10.1016/S0749-0720\(15\)30816-1](https://doi.org/10.1016/S0749-0720(15)30816-1)
- Greger, J. L. (1993). Aluminum Metabolism. *Annual Review of Nutrition*, 13(1), 43–63. <https://doi.org/10.1146/annurev.nu.13.070193.000355>

- Gulati, A., Galvin, N., Lewis, E., Hennessy, D., O'Donovan, M., McManus, J. J., Fenelon, M. A., & Guinee, T. P. (2018). Outdoor grazing of dairy cows on pasture versus indoor feeding on total mixed ration: Effects on gross composition and mineral content of milk during lactation. *Journal of Dairy Science*, *101*(3), 2710–2723. <https://doi.org/10.3168/jds.2017-13338>
- Haase, H., & Rink, L. (2009). Functional Significance of Zinc-Related Signaling Pathways in Immune Cells. *Annual Review of Nutrition*, *29*(1), 133–152. <https://doi.org/10.1146/annurev-nutr-080508-141119>
- Hakki, S. S., Bozkurt, B. S., & Hakki, E. E. (2010). Boron regulates mineralized tissue-associated proteins in osteoblasts (MC3T3-E1). *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, *24*(4), 243–250. <https://doi.org/10.1016/j.jtemb.2010.03.003>
- Halliwell, B. (1987). Oxidants and human disease: some new concepts ¹. *The FASEB Journal*, *1*(5), 358–364. <https://doi.org/10.1096/fasebj.1.5.2824268>
- Heck, J. M. L., van valenberg, H. J. F., Dijkstra, J., & van Hooijdonk, A. C. M. (2009). Seasonal variation in the Dutch bovine raw milk composition. *Journal of Dairy Science*, *92*(10), 4745–4755. <https://doi.org/10.3168/jds.2009-2146>
- Hemken, & R. W. (1983). Potassium in ruminant nutrition. *West DesMoines: National Feed Ingredients Association*.
- Holstein Association USA.
- Horst, R. L. (1986). Regulation of Calcium and Phosphorus Homeostasis in the Dairy Cow. *Journal of Dairy Science*, *69*(2), 604–616. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(86\)80445-3](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(86)80445-3)
- ISMEA. (n.d.).
- Ivancic, J., & Weiss, W. P. (2001). Effect of Dietary Sulfur and Selenium Concentrations on Selenium Balance of Lactating Holstein Cows. *Journal of Dairy Science*, *84*(1), 225–232. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(01\)74472-4](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(01)74472-4)
- Jahnel, R. E., Blunk, I., Wittenburg, D., & Reinsch, N. (2023). Relationship between milk urea content and important milk traits in Holstein cattle. *Animal*, *17*(5), 100767. <https://doi.org/10.1016/j.animal.2023.100767>
- Jenkins, K. J., & Hidiroglou, M. (1991). Tolerance of the Preruminant Calf for Excess Manganese or Zinc in Milk Replacer. *Journal of Dairy Science*, *74*(3), 1047–1053. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(91\)78254-4](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(91)78254-4)
- Jensen J-EB, Stang H, & Kringsholm B. (1997). Relationship between trace element content and mechanical bone strength. In *Bone* (p. 338).
- Johnston, H., Beasley, L., & MacPherson, N. (2014). Copper toxicity in a New Zealand dairy herd. *Irish Veterinary Journal*, *67*(1). <https://doi.org/10.1186/2046-0481-67-20>
- Kandeel, S. A., Megahed, A. A., & Constable, P. D. (2019). Evaluation of hand-held sodium, potassium, calcium, and electrical conductivity meters for diagnosing subclinical mastitis and intramammary infection in dairy cattle. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, *33*(5), 2343–2353. <https://doi.org/10.1111/jvim.15550>
- Kandylis, K. (1984a). The role of sulphur in ruminant nutrition. A review. *Livestock Production Science*, *11*(6), 611–624. [https://doi.org/10.1016/0301-6226\(84\)90075-7](https://doi.org/10.1016/0301-6226(84)90075-7)

- Kandyliis, K. (1984b). Toxicology of Sulfur in Ruminants: Review. *Journal of Dairy Science*, 67(10), 2179–2187. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(84\)81564-7](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(84)81564-7)
- Kelly, M. L., Kolver, E. S., Bauman, D. E., Van Amburgh, M. E., & Muller, L. D. (1998). Effect of Intake of Pasture on Concentrations of Conjugated Linoleic Acid in Milk of Lactating Cows. *Journal of Dairy Science*, 81(6), 1630–1636. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(98\)75730-3](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(98)75730-3)
- Kidd, M. T., Ferket, P. R., & Qureshi, M. A. (1996). Zinc metabolism with special reference to its role in immunity. *World's Poultry Science Journal*, 52(3), 309–324. <https://doi.org/10.1079/WPS19960022>
- Kume, S. I., & Tanabe, S. (1993). Effect of Parity on Colostral Mineral Concentrations of Holstein Cows and Value of Colostrum as a Mineral Source for Newborn Calves. *Journal of Dairy Science*, 76(6), 1654–1660. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(93\)77499-8](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(93)77499-8)
- Lindmark-Månsson, H., Fondén, R., & Pettersson, H. E. (2003). Composition of Swedish dairy milk. *International Dairy Journal*, 13(6), 409–425. [https://doi.org/10.1016/S0958-6946\(03\)00032-3](https://doi.org/10.1016/S0958-6946(03)00032-3)
- Lock, A. L., & Garnsworthy, P. C. (2003). Seasonal variation in milk conjugated linoleic acid and D-desaturase activity in dairy cows. In *Livestock Production Science* (Vol. 79). www.elsevier.com/locate/livprodsci
- López-Barneo, J., & Armstrong, C. M. (1983). Depolarizing response of rat parathyroid cells to divalent cations. *Journal of General Physiology*, 82(2), 269–294. <https://doi.org/10.1085/jgp.82.2.269>
- Maia Toaldo, I., Zandonadi Gamba, G., Almeida Picinin, L., Rubensam, G., Hoff, R., & Bordignon-Luiz, M. (2012). Multiclass analysis of antibacterial residues in milk using RP-liquid chromatography with photodiode array and fluorescence detection and tandem mass spectrometer confirmation. *Talanta*, 99, 616–624. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2012.06.047>
- Malecki, E. A., & Greger, J. L. (1996). Manganese Protects against Heart Mitochondrial Lipid Peroxidation in Rats Fed High Levels of Polyunsaturated Fatty Acids. *The Journal of Nutrition*, 126(1), 27–33. <https://doi.org/10.1093/jn/126.1.27>
- Manuelian, C. L., Penasa, M., Visentin, G., Zidi, A., Cassandro, M., & De Marchi, M. (2018). Mineral composition of cow milk from multibreed herds. *Animal Science Journal*, 89(11), 1622–1627. <https://doi.org/10.1111/asj.13095>
- Martens, H., Leonhard-Marek, S., Röntgen, M., & Stumpff, F. (2018). Magnesium homeostasis in cattle: absorption and excretion. *Nutrition Research Reviews*, 31(1), 114–130. <https://doi.org/10.1017/S0954422417000257>
- McGuffey, R. K., & Shirley, J. E. (2011). Introduction | History of Dairy Farming. In *Encyclopedia of Dairy Sciences* (pp. 2–11). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-374407-4.00540-9>
- Melissa Elischer. (2014). *History of dairy cow breeds: Holstein*.
- Moffett D, Smith C, Stevens Y, Ingerman L, Swarts S, & Chappell L. (2007). *TOXICOLOGICAL PROFILE FOR BARIUM AND BARIUM COMPOUNDS*.
- Mollerberg, L., & Moreno-Lopez, J. (1975). THE RESPONSE OF NORMAL AND IRON ANEMIC CALVES TO NASAL INFECTION WITH AN ATTENUATED STRAIN OF PARAINFLUENZA-3 VIRUS. In *Acta vet. scand* (Vol. 16).
- Moonsie-Shageer, S., & Mowat, D. N. (1993). Effect of level of supplemental chromium on performance, serum constituents, and immune status of stressed feeder calves¹. *Journal of Animal Science*, 71(1), 232–238. <https://doi.org/10.2527/1993.711232x>

- Moore, S. S., Costa, A., Penasa, M., Callegaro, S., & De Marchi, M. (2023). How heat stress conditions affect milk yield, composition, and price in Italian Holstein herds. *Journal of Dairy Science*. <https://doi.org/10.3168/jds.2022-22640>
- Moradi, M., Omer, A. K., Razavi, R., Valipour, S., & Guimarães, J. T. (2021). The relationship between milk somatic cell count and cheese production, quality and safety: A review. In *International Dairy Journal* (Vol. 113). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2020.104884>
- Murphy, S. C., Martin, N. H., Barbano, D. M., & Wiedmann, M. (2016). Influence of raw milk quality on processed dairy products: How do raw milk quality test results relate to product quality and yield? *Journal of Dairy Science*, 99(12), 10128–10149. <https://doi.org/10.3168/jds.2016-11172>
- NASEM 2021. (2021).
- National Research Council (U.S.). Subcommittee on Dairy Cattle Nutrition. (2001). *Nutrient requirements of dairy cattle*.
- Neville F. Suttle. (2010). *Mineral Nutrition of Livestock, 4th Edition*.
- Neville, M. C., P. Zhang, & J. C. Allen. (1995). Minerals, ions, and trace elements in milk. A. Ionic interactions in milk. In *Handbook of Milk Composition* (pp. 577–592).
- Nogalska, A., Momot, M., & Nogalski, Z. (2020). The mineral composition of milk from high-yielding dairy cows depending on the month of lactation and udder health. *Applied Sciences (Switzerland)*, 10(14). <https://doi.org/10.3390/app10144803>
- NRC. (1980).
- NRC: Vol. DM. (2005).
- O'Connor, C. I., Nielsen, B. D., Woodward, A. D., Spooner, H. S., Ventura, B. A., & Turner, K. K. (2008). Mineral balance in horses fed two supplemental silicon sources. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 92(2), 173–181. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0396.2007.00724.x>
- Ogawa, H., Shinoda, T., Cornelius, F., & Toyoshima, C. (2009). *Crystal Structure of the Sodium-Potassium Pump (Na⁺, K⁺-ATPase) with Bound Potassium and Ouabain* (Vol. 106, Issue 33).
- OSTERSEN, S., FOLDAGER, J., & HERMANSEN, J. E. (1997). Effects of stage of lactation, milk protein genotype and body condition at calving on protein composition and renneting properties of bovine milk. *Journal of Dairy Research*, 64(2), 207–219. <https://doi.org/10.1017/S0022029996002099>
- Pantoja, J. C. F., Reinemann, D., & Ruegg, P. L. (2009). Associations among milk quality indicators in raw bulk milk. *Journal of Dairy Science*, 92(10), 4978–4987. <https://doi.org/10.3168/jds.2009-2329>
- Park, S. M., Kim, H. S., & Yu, T. S. (2006). Effect of Titanium Ion and Resistance Encoding Plasmid of *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 10145. *Journal of Microbiology*.
- Peana, M., Medici, S., Dadar, M., Zoroddu, M. A., Pelucelli, A., Chasapis, C. T., & Bjørklund, G. (2021). Environmental barium: potential exposure and health-hazards. *Archives of Toxicology*, 95(8), 2605–2612. <https://doi.org/10.1007/s00204-021-03049-5>
- Pechová, A., Pavlata, L., & Lokajová, E. (2006). Zinc Supplementation and Somatic Cell Count in Milk of Dairy Cows. *Acta Veterinaria Brno*, 75(3), 355–361. <https://doi.org/10.2754/avb200675030355>
- Pegolo, S., Giannuzzi, D., Bisutti, V., Tessari, R., Gelain, M. E., Gallo, L., Schiavon, S., Tagliapietra, F., Trevisi, E., Ajmone Marsan, P., Bittante, G., & Cecchinato, A. (2021). Associations between differential somatic

cell count and milk yield, quality, and technological characteristics in Holstein cows. *Journal of Dairy Science*, 104(4), 4822–4836. <https://doi.org/10.3168/jds.2020-19084>

- Petrera, F., Catillo, G., Napolitano, F., Malacarne, M., Franceschi, P., Summer, A., & Abeni, F. (2016). New insights into the quality characteristics of milk from Modenese breed compared with Italian Friesian. *Italian Journal of Animal Science*, 15(4), 559–567. <https://doi.org/10.1080/1828051X.2016.1222889>
- Piazza, M., Schiavon, S., Saha, S., Berton, M., Bittante, G., & Gallo, L. (2023). Body and milk production traits as indicators of energy requirements and efficiency of purebred Holstein and 3-breed rotational crossbred cows from Viking Red, Montbéliarde, and Holstein sires. *Journal of Dairy Science*. <https://doi.org/10.3168/jds.2022-22830>
- Picinin, L. C. A., Toaldo, I. M., Hoff, R. B., Souza, F. N., Leite, M. O., Fonseca, L. M., Diniz, S. A., Silva, M. X., Haddad, J. P. A., Cerqueira, M. M. O. P., & Bordignon-Luiz, M. T. (2017). Milk quality parameters associated with the occurrence of veterinary drug residues in bulk tank milk. *Scientia Agricola*, 74(3), 195–202. <https://doi.org/10.1590/1678-992X-2016-0120>
- Pogge, D. J., Drewnoski, M. E., & Hansen, S. L. (2014). High dietary sulfur decreases the retention of copper, manganese, and zinc in steers. *Journal of Animal Science*, 92(5), 2182–2191. <https://doi.org/10.2527/jas.2013-7481>
- Pors Nielsen, S. (2004). The biological role of strontium. In *Bone* (Vol. 35, Issue 3, pp. 583–588). <https://doi.org/10.1016/j.bone.2004.04.026>
- Reinhardt, T. A., Horst, R. L., & Goff, J. P. (1988). Calcium, Phosphorus, and Magnesium Homeostasis in Ruminants. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*, 4(2), 331–350. [https://doi.org/10.1016/S0749-0720\(15\)31052-5](https://doi.org/10.1016/S0749-0720(15)31052-5)
- Richter, E. L., Drewnoski, M. E., & Hansen, S. L. (2012). Effects of increased dietary sulfur on beef steer mineral status, performance, and meat fatty acid composition. *Journal of Animal Science*, 90(11), 3945–3953. <https://doi.org/10.2527/jas.2011-4512>
- Robinson, D. L., Hemkes, O. J., & Kemp, A. (1984). Relationships among forage aluminum levels, soil contamination on forages, and availability of elements to dairy cows. *Netherlands Journal of Agricultural Science*, 32(2), 73–80. <https://doi.org/10.18174/njas.v32i2.16906>
- Ruegg, P. L., & Tabone, T. J. (2000). The relationship between antibiotic residue violations and somatic cell counts in Wisconsin dairy herds. *Journal of Dairy Science*, 83(12), 2805–2809. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(00\)75178-2](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(00)75178-2)
- Safak, T., & Risvanli, A. (2021). Changes in Somatic Cell Count, Composition and Cytokine Levels in Milk from Cows with Mastitis Due to Mixed Infections. *Acta Scientiae Veterinariae*, 49. <https://doi.org/10.22456/1679-9216.117149>
- Saha, S., Piazza, M., Bittante, G., & Gallo, L. (2021). Macro- and micromineral composition of milk from purebred Holsteins and four generations of three-breed rotational crossbred cows from Viking Red, Montbéliarde and Holstein sires. *Italian Journal of Animal Science*, 20(1), 447–452. <https://doi.org/10.1080/1828051X.2021.1890646>
- Sasser, L. B., Ward, G. M., & Johnson, J. E. (1966). Variations in Potassium Concentration of Cow's Milk. *Journal of Dairy Science*, 49(7), 893–895. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(66\)87965-1](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(66)87965-1)
- Scaletti, R. W., Trammell, D. S., Smith, B. A., & Harmon, R. J. (2003). Role of Dietary Copper in Enhancing Resistance to Escherichia coli Mastitis. *Journal of Dairy Science*, 86(4), 1240–1249. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(03\)73708-4](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(03)73708-4)

- Schroeder, H. A., Balassa, J. J., & Tipton, I. H. (1963). Abnormal trace metals in man: Titanium. *Journal of Chronic Diseases*, 16(1), 55–69. [https://doi.org/10.1016/0021-9681\(63\)90019-5](https://doi.org/10.1016/0021-9681(63)90019-5)
- Schroeder, H. A., Balassa, J. J., & Vinton, W. H. (1964). Chromium, Lead, Cadmium, Nickel and Titanium in Mice: Effect on Mortality, Tumors and Tissue Levels. *The Journal of Nutrition*, 83(3), 239–250. <https://doi.org/10.1093/jn/83.3.239>
- Schwietert, C. W., & McCue, J. P. (1999). Coordination compounds in medicinal chemistry. *Coordination Chemistry Reviews*, 184(1), 67–89. [https://doi.org/10.1016/S0010-8545\(98\)00205-7](https://doi.org/10.1016/S0010-8545(98)00205-7)
- Seegers, H., Fourichon, C., & Beaudeau, F. (2003). Production effects related to mastitis and mastitis economics in dairy cattle herds. *Veterinary Research*, 34(5), 475–491. <https://doi.org/10.1051/ve>
- Shils, & M.E. (1997). Magnesium. In B. L. and S. R. A. O'Dell (Ed.), *Handbook of Nutritionally Essential Mineral Elements* (pp. 117–152). Marcel Dekker.
- Sielman, E. S., R. W. Sweeney, R. H. Whitlock, & R. Y. Reams. (1997). Hypokalemia in DairyCows Seilman. *Journal of the American Veterinary Medical Association*.
- Šimun Zamberlin, Neven Antunac, Jasmina Havranek, & Dubravka Samaržija. (2012). *Mineral elements in milk and dairy products*.
- Spears, J. W. (2015). Minerals in forages. In *Forage Quality, Evaluation, and Utilization* (pp. 281–317). wiley. <https://doi.org/10.2134/1994.foragequality.c7>
- Stewart, & P. A. (1981). How to understand acid-base: A quantitative acidbase primer for biology and medicine. *Elsevier North Holland*.
- Stocco, G., Cipolat-Gotet, C., Bobbo, T., Cecchinato, A., & Bittante, G. (2017). Breed of cow and herd productivity affect milk composition and modeling of coagulation, curd firming, and syneresis. *Journal of Dairy Science*, 100(1), 129–145. <https://doi.org/10.3168/jds.2016-11662>
- Stocco, G., Summer, A., Cipolat-Gotet, C., Malacarne, M., Cecchinato, A., Amalfitano, N., & Bittante, G. (2021). The mineral profile affects the coagulation pattern and cheese-making efficiency of bovine milk. *Journal of Dairy Science*, 104(8), 8439–8453. <https://doi.org/10.3168/jds.2021-20233>
- Stocco, G., Summer, A., Malacarne, M., Cecchinato, A., & Bittante, G. (2019). Detailed macro- and micromineral profile of milk: Effects of herd productivity, parity, and stage of lactation of cows of 6 dairy and dual-purpose breeds. *Journal of Dairy Science*, 102(11), 9727–9739. <https://doi.org/10.3168/jds.2019-16834>
- Stoop, W. M., Van Arendonk, J. A. M., Heck, J. M. L., Van Valenberg, H. J. F., & Bovenhuis, H. (2008). Genetic parameters for major milk fatty acids and milk production traits of dutch Holstein-Friesians. *Journal of Dairy Science*, 91(1), 385–394. <https://doi.org/10.3168/jds.2007-0181>
- Summer, A., Franceschi, P., Malacarne, M., Formaggioni, P., Tosi, F., Tedeschi, G., & Mariani, P. (2009a). Influence of feeding flavouring-appetizing substances on activity of cows in an automatic milking system. *Italian Journal of Animal Science*, 8(sup2), 435–437. <https://doi.org/10.4081/ijas.2009.s2.435>
- Summer, A., Franceschi, P., Malacarne, M., Formaggioni, P., Tosi, F., Tedeschi, G., & Mariani, P. (2009b). Influence of somatic cell count on mineral content and salt equilibria of milk. *Italian Journal of Animal Science*, 8(sup2), 435–437. <https://doi.org/10.4081/ijas.2009.s2.435>
- Svennersten-Sjaunja, K., & Olsson, K. (2005). Endocrinology of milk production. *Domestic Animal Endocrinology*, 29(2), 241–258. <https://doi.org/10.1016/j.domaniend.2005.03.006>

- Tapiero, H., & Tew, K. D. (2003). Trace elements in human physiology and pathology: zinc and metallothioneins. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, *57*(9), 399–411. [https://doi.org/10.1016/S0753-3322\(03\)00081-7](https://doi.org/10.1016/S0753-3322(03)00081-7)
- Thompson, Abby., Boland, M., & Singh, Harjinder. (2009). *Milk proteins : from expression to food*. Academic Press/Elsevier.
- Thurston, H., Gilmore, G. R., & Swales, J. D. (1972). ALUMINIUM RETENTION AND TOXICITY IN CHRONIC RENAL FAILURE. *The Lancet*, *299*(7756), 881–883. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(72\)90743-X](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(72)90743-X)
- Toepfer, E., W. Mertz, M. Polansky, E. Roginski, & W. Wolf. (1977). Preparation of Chromium-Containing Material of Glucose Tolerance Factor Activity from Brewer's Yeast Extracts and by Synthesis. *J. Ag. Food Chem.*
- Toscano, A., Giannuzzi, D., Pegolo, S., Vanzin, A., Bisutti, V., Gallo, L., Trevisi, E., Cecchinato, A., & Schiavon, S. (2023). Associations between the detailed milk mineral profile, milk composition, and metabolic status in Holstein cows. *Journal of Dairy Science*, *106*(9), 6577–6591. <https://doi.org/10.3168/jds.2022-23161>
- Tunick, M. H. (1987). Calcium in Dairy Products. *Journal of Dairy Science*, *70*(11), 2429–2438. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(87\)80305-3](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(87)80305-3)
- Uysal, T., Ustidal, A., Sonmez, M. F., & Ozturk, F. (2009). Stimulation of Bone Formation by Dietary Boron in an Orthopedically Expanded Suture in Rabbits. *The Angle Orthodontist*, *79*(5), 984–990. <https://doi.org/10.2319/112708-604.1>
- Valdivia, R., Ammerman, C. B., Wilcox, C. J., & Henry, P. R. (1978). Effect of Dietary Aluminum on Animal Performance and Tissue Mineral Levels in Growing Steers. *Journal of Animal Science*, *47*(6), 1351–1356. <https://doi.org/10.2527/jas1978.4761351x>
- van Hulzen, K. J. E., Sprong, R. C., van der Meer, R., & van Arendonk, J. A. M. (2009). Genetic and nongenetic variation in concentration of selenium, calcium, potassium, zinc, magnesium, and phosphorus in milk of Dutch Holstein-Friesian cows. *Journal of Dairy Science*, *92*(11), 5754–5759. <https://doi.org/10.3168/jds.2009-2406>
- Vincent, J. B. (2000). The Biochemistry of Chromium. *The Journal of Nutrition*, *130*(4), 715–718. <https://doi.org/10.1093/jn/130.4.715>
- Visentin, G., Niero, G., Berry, D. P., Costa, A., Cassandro, M., De Marchi, M., & Penasa, M. (2019). Genetic (co)variances between milk mineral concentration and chemical composition in lactating Holstein-Friesian dairy cows. *Animal*, *13*(3), 477–486. <https://doi.org/10.1017/S1751731118001507>
- Visentin, G., Penasa, M., Niero, G., Cassandro, M., & De Marchi, M. (2018). Phenotypic characterisation of major mineral composition predicted by mid-infrared spectroscopy in cow milk. *Italian Journal of Animal Science*, *17*(3), 549–556. <https://doi.org/10.1080/1828051X.2017.1398055>
- Ward, G. M. (1966). Potassium Metabolism of Domestic Ruminants—A Review. *Journal of Dairy Science*, *49*(3), 268–276. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(66\)87848-7](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(66)87848-7)
- Wise Burroughs, A. L. P. D. P. G. R. M. B. (1951). Mineral Influences upon Urea Utilization and Cellulose Digestion by Rumen Microorganisms Using the Artificial Rumen Technique. *Journal of Animal Science*, *10*(3).
- Zierden, M. R., & Valentine, A. M. (2016). Contemplating a role for titanium in organisms. *Metallomics*, *8*(1), 9–16. <https://doi.org/10.1039/C5MT00231A>

Zwierzchowski, G., & Ametaj, B. N. (2018). Minerals and Heavy Metals in the Whole Raw Milk of Dairy Cows from Different Management Systems and Countries of Origin: A Meta-Analytical Study. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 66(26), 6877–6888. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.8b00904>

RINGRAZIAMENTI

Questi tre anni di studio sono finiti e non me ne sono nemmeno accorto. Sono volati via in un batter d'occhio al contrario invece di tutti i momenti passati assieme ai miei amici e compagni di viaggio, quelli resteranno per sempre nel mio cuore.

Vorrei quindi ringraziare tutti i miei amici per il tempo trascorso, le risate, le battute e i momenti di confronto, molto più utili di molte altre cose. E ringrazio inoltre tutta la mia famiglia, per avermi sostenuto anche quando volevo buttare tutto al macero, per il supporto e per la pazienza portata nei miei confronti, tanta. Infine, un grande grazie alla relatrice della mia tesi, la Dottoressa Diana Giannuzzi, e il correlatore, il Dottor Alessandro Toscano, per essermi stati accanto durante la stesura di questo lavoro e per tutti i tempestivi e indispensabili consigli e correzioni al momento del bisogno.

APPENDICE

Tabella 1= Composizione della dieta (% di sostanza secca, SS) durante la lattazione e l'asciutta in 2 allevamenti

	Allevamento 1 ¹		Allevamento 2 ²		
	Lattazione	Asciutta	Lattazione primipare	Lattazione pluripare	Asciutta
Insilato di mais	12.42	-	30.76	32.94	31.49
Insilato di sorgo	24.6	26.61	-	-	-
Insilato di frumento	-	-	9.49	9.49	-
Fieno di erba medica	20.98	-	11.47	11.48	-
Fieno di loiessa	2.12	47.15	-	-	-
Paglia	-	14.14	-	-	43.49
Granella di mais	12.62	-	23.95	21.16	2.00
Granella di orzo	8.41	-	-	-	-
Farina di soia	12.1	5.53	9.25	10.65	10.01
Farina di girasole	4.34	5.78	4.69	4.43	2.54
Soia intera	-	-	3.52	3.32	-
Crusca di frumento	-	-	4.58	4.32	9.48
Grasso idrogenato	0.78	-	0.55	0.52	-
Minerali e vitamine	1.63	0.79	1.76	1.69	1.00
<i>Composizione analitica</i>					
UFL (U/kg SS)	0.97	0.78	0.98	0.98	0.72
ENI (Mcal/kg SS)	1.55	1.31	1.59	1.53	1.15
Proteina grezza (% SS)	16.50	12.50	15.97	16.34	11.51
Proteina metabolizzabile (% SS)	10.50	8.27	10.79	10.92	8.24
NSC (% SS)	36.80	19.00	44.07	43.06	21.41
NDF (% SS)	35.80	56.00	32.18	32.91	58.68

¹ Allevamento 1: durante l'asciutta gli animali ricevevano 70 g/d di integrazione che contenevano 42.9% Ca₂PO₄; 28.6% urea; 14.3% MgO; 7.1% NaCl; 7.1% complesso di vitamine e minerali composto per fornire 100000 UI di vitamina A, 10000 IU di vitamina D, 500 mg di vitamina E, 100 mg di Mn, 300 mg di Zn, 50 mg di Cu, 5 mg di I, 1 mg di Co, 3 mg di Se. Durante la lattazione le vacche da latte ricevevano 300 g/d di integrazione che conteneva, 27.5% NaHCO₃, 20% CaCO₃, 20% CaHPO₄; 7% MgO; 2% NaCl; 10% complesso di vitamine e minerali composto per fornire, 150000 UI di vitamina A, 15000 IU di vitamina D, 1000 mg di vitamina E, 100 mg di vitamina K, 100 mg di vitamina H1 50 mg di vitamina B1, 0.5 mg di vitamina B12, 500 mg di vitamina PP, 4000 mg di colina, 700 mg di Mn, 1200 mg di Zn, 200 mg di Cu, 20 mg di I, 2 mg di Co, 4 mg di Se.

² Allevamento 2: Durante la lattazione le vacche da latte ricevevano un'integrazione tale da fornire 132000 UI di vitamina A, 33000 IU di vitamina D, 650 mg di vitamina E, 770 mg di Mn, 1100 mg di Zn, 180 mg di Cu, 22 mg di I, 2.5 mg di Co, 3.6 mg of Se. Durante l'asciutta gli animali ricevevano un'integrazione tale da fornire 210000 UI di vitamina A, 54000 IU di vitamina D, 1000 mg di vitamina E, 1200 mg di Mn, 600 mg di Zn, 300 mg di Cu, 35 mg di I, 4.2 mg di Co, 5.5 mg di Se.

Tabella presa e modificata da Giannuzzi, D., A. Toscano, S. Pegolo, L. Gallo, F. Tagliapietra, M. Mele, A. Minuti, E. Trevisi, P. Ajmone Marsan, S. Schiavon, and A. Cecchinato. 2022. Associations between Milk Fatty Acid Profile and Body Condition Score, Ultrasound Hepatic Measurements and Blood Metabolites in Holstein Cows. *Animals*: 12(9):1202.

Tabella 2: Composizione della dieta durante la lattazione in 3 allevamenti

	Allevamento 3	Allevamento 4	Allevamento 5
Ingredienti alimentari (kg SS/d)			
Insilato di mais	4.0	7.0	4
Insilato di sorgo	3.0		2
Fieno di prato, mezza maturità	3.0	3.0	4
Granella d'orzo	3.0		
Granella di mais	3.0	8.0	6.5
Farina di estrazione di soia (44% proteina grezza)	3.0	2.5	2.8
Complesso minerale-vitaminico	1.0	0.8	1
Totale	20.0	21.3	20.3
Componenti analitici:			
Energia netta, MJ/kg SS	6.48	6.92	6.59
Proteina grezza, g/kg	160	142	151
Estratto etereo g/kg	27	32	30
NDF, g/kg	337	282	313
ADF, g/kg	202	169	191
Ceneri, g/kg	50	40	48
Ca, g/kg	8.4	8.2	8.1
P, g/kg	4.6	4.4	4.5

I dati sono basati su analisi chimiche per i foraggi prodotti in azienda, e su valori tabellari (NRC, 2001) per i concentrati.

Tabella presa e modificata da Pegolo, S., D. Giannuzzi, F. Piccioli-Cappelli, L. Cattaneo, M. Giancesella, P. Ruegg, E. Trevisi, and A. Cecchinato. 2023. Blood biochemical changes upon subclinical intramammary infection and inflammation in Holstein cattle. *Journal of Dairy Science* In Press