



UNIVERSITA' DEGLI STUDI DI PADOVA

FACOLTA' DI AGRARIA

DIPARTIMENTO DI SCIENZE ANIMALI

LAUREA SPECIALISTICA IN SCIENZE E TECNOLOGIE ANIMALI

**IMPIEGO DI DIVERSI SUPPLEMENTI LIPIDICI
NELL'ALIMENTAZIONE DELLA VACCA DA
LATTE AD ALTA PRODUZIONE**

RELATORE: CH.MA PROF.SSA LUCIA BAILONI

CORRELATORE: DOTT. ALBERTO SIMONETTO

LAUREANDO: MATTEO DAL MASO

ANNO ACCADEMICO 2005 - 2006

A mia moglie Lorena

Riassunto

Il periodo del post-parto rappresenta una fase molto delicata nella gestione della vacca da latte. A causa degli elevati fabbisogni nutrizionali che raggiungono il massimo al picco di lattazione e la ridotta capacità d'ingestione della bovina, al fine di ottenere elevati livelli produttivi e non compromettere lo stato di salute degli animali, è necessario porre particolare attenzione alla formulazione di diete bilanciate. Una delle strategie alimentari per aumentare la concentrazione energetica delle diete in questa fase è rappresentata dall'inclusione nella razione di supplementi energetici che non modificano sostanzialmente il volume di sostanza secca ingerita.

Lo scopo di questo lavoro sperimentale è stato quello di valutare gli effetti dell'aggiunta di due integratori lipidici (un idrogenato ed un sapone) e di soia integrale tostata, nella dieta di bovine da latte ad alta produzione, verificando in particolare le eventuali modificazioni del profilo acidico del latte con particolare riguardo alla presenza di acidi grassi della serie $\omega 3$ e $\omega 6$ e di CLA (conjugated linoleic acids).

La prova è stata suddivisa in due fasi: una prima fase ("fase preliminare") nella quale sono stati analizzati diversi integratori lipidici commerciali, ed una seconda fase ("fase sperimentale") durante la quale sono stati testati i diversi supplementi lipidici. La fase sperimentale ha avuto una durata complessiva di 5 settimane (2 di adattamento alla dieta di base e 3 di sperimentazione). Nella prova sono state utilizzate 24 vacche in lattazione in prevalenza di razza Frisona, omogeneamente suddivise in 4 gruppi: controllo, CTR; idrogenato, HIDRO; sapone, MAXI, e soia integrale tostata, SOIA). Gli integratori sono stati somministrati mediante la tecnica del "top dressing" in quantità tale da apportare la stessa quantità di lipidi grezzi. Sono stati raccolti i dati relativi ai diversi controlli sperimentali, elaborati poi statisticamente con il programma SAS/STAT.

Questa prova ha evidenziato che l'impiego di supplementi lipidici può essere una valida strategia per aumentare la concentrazione energetica della dieta e sostenere quindi elevate produzioni di latte, soprattutto nella prima fase della lattazione, evitando anche la comparsa di dismetabolie nel post-parto. Riguardo specificamente al profilo acidico è emerso come solo mediante l'utilizzo di grassi saponificati e di soia integrale si è in grado di migliorare il profilo acidico del latte arricchendolo di acidi grassi polinsaturi e, in particolare di CLA.

Abstract

In the dairy cow, the delicate period between the calving and the lactation peak, in order to obtain a high level of production, particular attention to the rationing must be lend. One strategy in order to avoid the reduction of the food assumption, it's to increase the energetic level of the diet, modifying some less possible it volume.

The aims of the experiments of this study, was to estimate the effect of added a two lipidics integrators (hydrogenated and calcium soap) and the toasted soybean seeds, on the feeding of the lactating cows. Moreover was to evaluate if the various types of integration modify the acidic profile of the milk, with particular regard to the fatty acid presence of the $\omega 3$ and $\omega 6$ and of CLA (conjugated linoleic acids) series. The test was subdivided in two phases: the "preliminary period" in which it was analyzes various commercial lipidics integrators, and a second phase ("experimental period"), during which the lipidics integrators and the toasted soybean seeds, have been inserted in the diet. The experimental period lasted five weeks subdivided in two weeks of adaptation to the basal diet and three weeks of experimentation. In the experiments, 24 lactating cow in prevalence of Fresian cow, assigned to 4 experimental groups: control group (CTR), hidrogenated group (HIDRO), calcium soap group (MAXI) and toasted soybean group (SOIA). During every single daily test, the bovine received the integrators by the technique of "top dressing". In the experimental period they was execute yourself, in order to carry out the successive analyses, the following reliefs: BCS, feed samples for determination of chemical and physical composition, estimation of TMR particle size, alimentary consumptions, milk, blood and liquid ruminal samples for determination the chemical composition. All data was recorded and statistically examined with SAS/STAT program.

It's concluded the test has evidenced that the employment of lipidics integrators can be one valid strategy in order to increase the concentration energetic of the diet and to support therefore high milk productions of, above all in the first phase of the lactation. It's also a good solution for dismetabolic problem in the transition cow period. Specifically, in relation of the acidics profile, it's emerged only the use of fat calcium soap and toasted soybean it's in a position to improving the milk acidics profile ones enriching it of poli unsaturated fatty acid (PUFA), and in particular of CLA.

Indice

Riassunto.....	III
Abstract.....	V
1. Introduzione.....	11
1.1 L'integrazione energetica nella vacca da latte ad alta produzione.....	11
1.2 Integratori lipidici.....	13
1.2.1 Classificazione dei principali integratori lipidici.....	13
1.2.1.1 Integratori lipidici protetti.....	16
1.2.2 Impiego dei supplementi lipidici nelle diete per vacche da latte...	17
1.3 Effetti dell'aggiunta di grassi nella dieta dei ruminanti.....	18
1.3.1 Effetti sulla popolazione microbica ruminale.....	19
1.3.2 Effetti sulla produzione quantitativa e qualitativa del latte.....	20
1.3.2.1 I coniugati dell'acido linoleico – CLA.....	22
1.3.2.2 Gli acidi grassi della serie $\omega 3$ e $\omega 6$	24
1.3.3 Integrazione energetica ed effetti sulla salute delle bovine.....	25
2. Obiettivi.....	27
3. Materiale e metodi.....	29
3.1 Fase preliminare: valutazione dei diversi integratori lipidici.....	29
3.1.1 Analisi chimiche.....	29
3.1.2 Analisi fisiche.....	30
3.2 Fase sperimentale: protocollo adottato.....	32
3.2.1 Integratori somministrati.....	32
3.2.2 Caratteristiche delle bovine in prova.....	34
3.2.3 Caratteristiche della dieta somministrata.....	36
3.2.4 Composizione della dieta di base.....	37
3.2.5 Controlli sperimentali.....	38
3.2.6 Valutazione del BCS.....	39
3.2.7 Analisi fisiche e chimiche della razione.....	39
3.2.7.1 Analisi chimiche.....	40
3.2.8 Controllo della produzione e della qualità del latte.....	41
3.2.9 Analisi dei parametri ematici.....	43

3.2.10	Prelievo e analisi del liquido ruminale.....	44
3.2.10.1	Determinazione degli AGV e dell'azoto ammoniacale.....	45
3.3	Elaborazione statistica dei dati raccolti.....	46
4.	Risultati e discussione.....	47
4.1	Fase preliminare: valutazione dei diversi integratori lipidici.....	47
4.1.1	Analisi chimiche.....	47
4.1.2	Confronto dati di cartellino.....	50
4.1.3	Analisi fisiche.....	51
4.2	Fase sperimentale.....	52
4.2.1	Caratteristiche degli animali all'inizio della prova.....	52
4.2.2	Caratteristiche chimiche e nutrizionali degli alimenti impiegati...	55
4.2.3	Caratteristiche fisiche dei concentrati utilizzati.....	56
4.2.4	Caratteristiche chimiche delle diete.....	57
4.2.5	Caratteristiche fisiche dell'unifeed.....	59
4.2.6	Ingestione alimentare delle bovine in prova.....	60
4.2.7	Produzione di latte.....	63
4.2.8	Qualità del latte.....	65
4.2.9	Profilo acidico del latte.....	68
4.2.10	Parametri ematici.....	73
4.2.11	Parametri ruminali.....	76
5.	Conclusioni.....	79
6.	Bibliografia.....	83
	Abbreviazioni.....	91

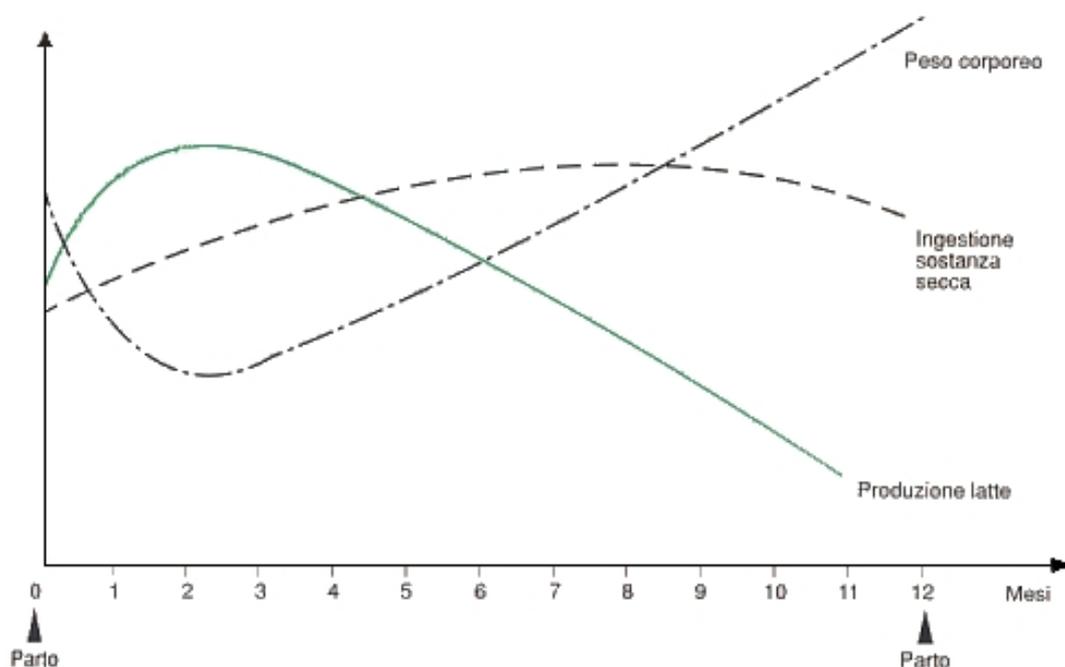
1. Introduzione

L'alimentazione della vacca da latte, ricopre un ruolo fondamentale nell'efficienza tecnico economica dell'azienda zootecnica. Essa, infatti, incide per il 60% circa sulla determinazione dei costi totali (Church, 1979). La gestione della razione è uno dei principali fattori che vanno ad influenzare lo stato di salute delle bovine condizionando lattazione, qualità e quantità di latte prodotto (Giussani, 2005). Il miglioramento genetico, ha aumentato notevolmente la produttività degli animali, ma la capacità di ingestione non ha avuto un analogo incremento, risultando non adeguata agli elevati quantitativi di latte prodotti. Le strategie alimentari nella gestione di animali molto produttivi, devono quindi porsi come principale obiettivo, l'aumento dei livelli energetici (Bittante *et al.*, 1993). La corretta formulazione di una dieta, però, deve soddisfare quanto più possibile il tenore di energia richiesto, mantenendo un adeguato rapporto tra foraggi e concentrati. Risulta utile ricordare che, secondo studi condotti da Van Soest (1994), il consumo volontario di una dieta fornita ai ruminanti è inversamente proporzionale al contenuto in pareti cellulari (NDF) ed è direttamente proporzionale alla sua digeribilità.

1.1 L'integrazione energetica nella vacca da latte ad alta produzione

L'integrazione energetica nelle bovine da latte ad alta produzione (BLAP), è necessaria quando gli animali hanno esigenze energetiche molto elevate, soprattutto nella prima fase della lattazione. A questi fabbisogni produttivi molto elevati, l'organismo risponde mobilizzando, in modo "fisiologico", le proprie riserve energetiche (adipose e proteiche). Il meccanismo appena descritto è molto comune nella prima fase di lattazione, ovvero quando il profilo metabolico ed ormonale dell'apparato digerente deve passare da una fase prettamente anabolica (fase di asciutta e fine gravidanza), ad una fase altamente catabolica, caratterizzata da un'intensa mobilizzazione di nutrienti verso la mammella (Dado *et al.*, 1995). Quanto descritto si riflette negativamente sulla curva di ingestione che si trova sfasata rispetto alla curva di produzione, raggiungendo il suo picco massimo circa un mese dopo (*Grafico 1.1*).

Grafico 1.1 – Andamento della curva di lattazione



Come descritto per la curva di ingestione, anche la condizione corporea (BCS) raggiunge i suoi valori normali solo da metà lattazione in poi; risulta quindi opportuno ridurre quanto più possibile la perdita di peso. Massimizzare l'ingestione di sostanza secca in questo periodo critico (definito anche "transition cow"), risulta molto importante per ridurre il più possibile la perdita di condizione corporea ed equilibrare il rapporto tra foraggi e concentrati nella dieta.

L'utilizzo dei lipidi risulta molto utile quando è necessario innalzare il livello energetico della dieta, modificando quanto meno possibile l'ingombro e quindi il volume della dieta stessa. Questa strategia, risulta utile soprattutto per le vacche appartenenti a tipi genetici caratterizzati da grandi produzioni e ridotta capacità di ingestione, dovuta al limitato volume dell'apparato digerente (in particolare ruminale e reticolo). I lipidi sono nutrienti ad elevato contenuto energetico e, se immagazzinati, vanno a costituire un'importante riserva energetica. I lipidi presentano un'energia lorda (EL) pari a 38-39 MJ/kg s.s., valore più che doppio rispetto ai carboidrati e alle proteine che contengono 16-17 MJ/kg s.s. e 22-24 MJ/kg s.s. rispettivamente.

1.2 Integratori lipidici

Per integratore alimentare, come previsto dalla legge 281/63 (GU n.62, 1963), si intende: "prodotto alimentare derivante da processi tecnologici chimico-industriali e di sintesi che hanno una specifica funzione nutritiva nel metabolismo minerale, vitaminico azotato ed energetico, e che possiedono elevate concentrazioni di principi per questo possono essere impiegati in ridotte percentuali". Nel nostro caso verrà trattato l'aumento del tenore lipidico nelle diete utilizzando i grassi o materie prime ad elevato tenore lipidico, classificati come integratori energetici.

Negli alimenti utilizzati in zootecnia, i lipidi variano la loro percentuale in funzione della categoria di alimenti cui appartengono, passando dal 2 al 10% sulla sostanza secca in quelli a basso tenore lipidico, valori dall'11 al 45% s.s. per alimenti a medio tenore lipidico, per raggiungere infine valori fino al 90-100% sulla sostanza secca in alimenti ad alto tenore lipidico (oli e grassi). I lipidi sono costituiti da miscele di acidi grassi derivanti da vegetali e animali sia da serie satura che da serie insatura e la loro composizione chimica dipende dalla varietà coltivata e dal luogo di coltivazione, mentre per quelli di tipo animale, varia in funzione di specie, razza, età e tipo di alimentazione.

1.2.1 Classificazione dei principali integratori lipidici

Come descritto da Piccioni (1989) i lipidi utilizzati nell'alimentazione degli animali da reddito, si dividono in grassi animali, grassi vegetali e grassi misti (animali e vegetali mescolati tra loro in varie proporzioni).

I **grassi di tipo animale**, contengono in prevalenza acidi grassi saturi (assenza di doppi legami negli atomi di carbonio) e, a temperatura ambiente, si presentano allo stato solido e riportano una capacità di conservazione maggiore. I grassi di origine animale, provengono dalla lavorazione dei sottoprodotti e dagli scarti della macellazione di bovini e suini che, a sua volta, si dividono in funzione del punto di fusione, il quale indica la temperatura alla quale fondono. Questo parametro è legato alla qualità e al grado di saturazione del grasso in oggetto. Sego (grasso di origine bovina) e lardo (grasso di origine suina), allo stesso modo, si dividono in: sego o lardo se stanno sopra ai 40°C del punto di fusione, mentre si definiscono semplicemente grassi quando si

trovano al di sotto di tale valore. Nell'alimentazione degli animali da reddito questi grassi non venivano utilizzati tal quali, ma inseriti nei mangimi. A seguito della crisi BSE, però, per non compromettere la salute ed il benessere degli animali e la sicurezza dei consumatori (CEE, libro bianco sulla sicurezza, 2000), i prodotti di origine animale non possono essere introdotti nei mangimi e nelle diete dei ruminanti (Reg. CEE n. 999/2001, L 147/2001). Nella *tabella 1.1*, possiamo notare comunque, quale sia la composizione acidica dei diversi grassi animali quali il grasso bovino, denominato comunemente “sego” (tallow), o il grasso suino denominato “lardo” o “strutto” (lard).

Tabella 1.1 – Contenuto percentuale dei principali acidi grassi nei più comuni grassi animali (Piccioni, 1989 – modificato)

	strutto grezzo (%)	sego raffinato (%)
Ac. Grassi saturi		
C16 - palmitico	23	27
C18 - stearico	16	25
Totale ac.Saturi	39	52
Ac. Grassi insaturi		
C18:1 - oleico	41	33
C18:2 - linoleico	8	4
C18:3 - linolenico	0,5	tracce
Totale ac. Insaturi	49,5	37

I **grassi vegetali** contengono in prevalenza acidi grassi insaturi (presenza di doppi legami fra gli atomi di carbonio) ed alla temperatura ambiente, si presentano in forma liquida e oleosa. Gli oli vegetali più comuni, si ottengono dalla lavorazione dei semi derivanti dalle leguminose (*Tabella 1.2*), denominate anche proteoleaginose (soia, arachide, girasole, colza) e, in misura minore da graminacee, (mais, riso). Solitamente questa tipologia di oli viene utilizzata nell'alimentazione umana mentre, nell'alimentazione degli animali, si utilizzano i sottoprodotti della lavorazione di queste materie prime in funzione del loro elevato contenuto proteico e glucidico ed una residua quota lipidica in funzione della trattamento eseguito.

Tali prodotti si dividono in: panelli ed expeller, se per l'estrazione dell'olio vengono utilizzate lavorazioni di tipo meccanico, le farine di estrazione se la frazione lipidica viene estratta chimicamente tramite l'utilizzo di solventi (Caselli, 1972). I panelli, a differenza delle farine di estrazione, si distinguono per contenere ancora una buona quota lipidica (fino al 12%), gli expeller, mediante tecnica più moderna arrivano fino al 3-6% di lipidi grezzi, mentre nelle farine di estrazione ci si attesta sull'1-2% di estratto etereo.

Tabella 1.2 - Contenuto percentuale dei principali acidi grassi nei più comuni grassi vegetali (Piccioni, 1989 – modificato)

	Arachide	Germe di mais	Girasole	Colza	Soia
Ac. Grassi saturi					
C16 - palmitico	11	11	6	5	10
C18 - stearico	3,5	2,2	5,1	1,5	4,3
Totale ac. Saturi	14,5	13,2	11,1	6,5	14,3
Ac. Grassi insaturi					
C18:1 - oleico	50	28	25	58	23
C18:2 - linoleico	29	57	63	20	54
C18:3 - linolenico	tracce	0,8	tracce	8,9	6,7
Totale ac. Insaturi	79	85,8	88	86,9	83,7

I grassi vegetali maggiormente utilizzati nell'alimentazione degli animali da reddito, sono quelli derivanti dagli oli di palma, di palmisto e di cocco. Come riportato nella *tabella 1.3*, si osserva come l'olio di palma riporti tenori pressoché bilanciati di acidi grassi saturi ed insaturi, mentre negli oli di cocco e palmisto, i tenori di questi acidi grassi sia piuttosto basso; è da specificare che quest'ultimi contengono un'elevata quantità di acidi grassi della serie satura a corta catena (C6 - C14), con valori sul totale dei grassi, che si attestano attorno al 60-70% per entrambi.

Tabella 1.3 - Valori percentuali dei principali acidi grassi negli oli di cocco, palma e palmisto (Piccioni, 1989 – modificato).

	olio di cocco	olio di palma	olio di palmisto
Ac. Grassi saturi			
C16 - palmitico	8,5	45	8,5
C18 - stearico	2,5	5	2,5
Totale ac.Saturi	11	50	11
Ac. Grassi insaturi			
C18:1 - oleico	7	37,5	13
C18:2 - linoleico	1,5	10	1,5
C18:3 - linolenico	0,2	0,4	0,4
C20:2 - arachidonico	0	0,4	0,1
Totale ac. Insaturi	8,7	48,3	15

1.2.1.1 Integratori lipidici protetti

Dagli oli di palma, cocco e palmisto, derivano una serie di sottoprodotti ottenuti da lavorazioni industriali quali idrolisi, idrogenazione e saponificazione, volte a cambiare le caratteristiche chimico-fisiche dei lipidi stessi. Questi processi vanno a modificare il grasso di partenza rendendolo prevalentemente di tipo saturo occupando i legami delle catene carboniose degli acidi grassi.

L'idrolisi, è una reazione chimica che scinde i grassi in acidi grassi e glicerina, ottenendo tenori di grasso dell'85% sulla sostanza secca.

L'idrogenazione è un processo che va a saturare i legami liberi nella catena carboniosa degli acidi grassi, addizionando idrogeno; i valori lipidici ottenuti con questo procedimento, arrivano fino al 99,9% di estratto etereo sulla sostanza secca.

La saponificazione è un processo che consiste nel salificare gli acidi grassi mediante l'aggiunta di idrossido di calcio o di altri elementi (magnesio, potassio ecc...); in questo tipo di grassi il tenore lipidico è attorno all'85% sulla sostanza secca. La saponificazione e l'idrogenazione, sono processi che permettono ai grassi di by passare il ruminale evitando il fenomeno della bioidrogenazione da parte dei microrganismi ruminali.

1.2.2 Impiego dei supplementi lipidici nelle diete per vacche da latte

Come riportato da vari autori (Borgioli 1985, McDonald 1992, Bittante *et al.* 1993, Antongiovanni *et al.* 1998), i grassi nell'alimentazione dei ruminanti rivestono un ruolo marginale. Infatti, la prevalente base foraggera delle razioni, ricopre più che sufficientemente la quota lipidica richiesta in quanto, a livello mammario, avvengono le sintesi dei principali acidi grassi del latte a partire dagli acidi acetico e butirrico (C2 – C4), derivanti dalle fermentazioni ruminali degli alimenti fibrosi.

A questo proposito risulta utile ricordare che diete con elevate quantità lipidiche vanno a deprimere la produzione di latte anziché aumentarla (Sutton 1980, Palmquist 1982). Da numerose esperienze condotte, risulta che se la concentrazione lipidica a livello intestinale dovesse essere eccessiva rispetto alle capacità emulsionanti del liquido biliare e delle lipasi pancreatiche, si andrebbe incontro ad un'alterazione dell'attività intestinale con una conseguente eliminazione di energia attraverso le feci (riduzione della digeribilità). E' stato dimostrato come l'utilizzo di elevate quantità di grasso nell'unifeed, vada a ridurre il rapporto tra gli acidi grassi volatili nel rumine (C2/C4) e il tenore di grasso nel latte (Sutton, 1980).

Osservando quanto precedentemente riportato, al fine di evitare gli effetti negativi di una dieta ad elevati contenuti lipidici, è buona norma mantenere i livelli di lipidi grezzi totali, nella dieta per vacche da latte, al di sotto del 5% (Piccioni 1989, Bittante *et al.* 1993, Giussani 2005), utilizzare grassi in ottimo stato di conservazione (prevalenza di acidi grassi saturi che sono stabili all'irrancidimento) e del tipo by-pass o ruminoprotetti. Una dieta troppo ricca di grassi, porta l'animale ad uno stato d'ingrassamento elevato; questo comporta un eccessivo deposito di grasso nella cavità addominale, riducendo quindi lo spazio utile al comparto ruminale per dilatarsi; anche quest'effetto comporta ripercussioni negative perché diminuisce la quantità di sostanza secca ingerita (Mc Donald, 1992).

A livello pratico, l'aggiunta di grassi nella dieta avviene in funzione del livello produttivo delle vacche da latte. Per produzioni al di sotto dei 25 kg/d di latte il contenuto di lipidi grezzi deve risultare compreso tra il 2,5 ed il 3% della sostanza secca; questi tenori dovrebbero arrivare esclusivamente dai concentrati e dai foraggi presenti nella normale razione.

A fronte di produzioni maggiori, l'aggiunta di integratori lipidici diventa utile per raggiungere, ma non superare, un livello di grasso pari al 4-4,5%. È importante osservare sempre le buone pratiche di razionamento, fornendo agli animali gli alimenti gradualmente in modo da abituare il rumine alle variazioni delle diete. L'utilizzo di soia integrale è una valida strategia per garantire un'integrazione non solo energetica della razione, ma per apportare anche elevate quote proteiche; la soia, inoltre, può essere prodotta anche a livello aziendale (Ramanzin *et al.*, 1991). Oltre alle caratteristiche di ottima fonte proteica, la soia è un'ottima fonte quantitativa e qualitativa di grassi, i cui effetti positivi si ripercuotono sul profilo acidico del latte, con particolare riguardo alle componenti bioattive (ad esempio i CLA)(Bailoni *et al.*, 2004). L'utilizzo di semi integrali di soia, se confrontati con altri semi oleosi, apporta un vantaggio ulteriore, non influenzando negativamente il normale livello di grasso nel latte. Il meccanismo che è alla base di questo effetto sta nel mantenimento di una normale attività dei microrganismi cellulosolitici che non risentono negativamente della presenza di questi lipidi. Oltre al trattamento fisico, come dimostrato da Dhiman (1997), anche la forma fisica influenza l'effetto sul grasso del latte; infatti, la soia con un grado di spezzatura medio rispetto al seme intero migliora la produzione di latte.

1.3 Effetti dell'aggiunta di grassi nella dieta dei ruminanti

Gli effetti dell'aggiunta di grassi nelle diete per vacche da latte, sono legati alla possibilità di aumentare la concentrazione energetica della dieta, senza diminuire l'apporto di fibra derivante da foraggi per dar posto all'integrazione energetica derivante dai concentrati amidacei, evitando uno squilibrio nel rapporto tra foraggi e concentrati. Nei capitoli successivi verranno elencati gli effetti positivi e negativi dell'integrazione lipidica nell'alimentazione della vacca da latte.

1.3.1 Effetti sulla popolazione microbica ruminale

I processi di utilizzazione dei lipidi nel rumine sono molteplici; i trigliceridi alimentari vengono scissi in glicerolo e acidi grassi da parte delle lipasi endogene dei microrganismi ruminanti (Keeney 1970, Dawson *et al* 1977). Il glicerolo viene utilizzato per produrre energia dai batteri ruminanti; questi producono acido propionico che successivamente viene assorbito dalle pareti ruminanti (McDonald 1992, Bittante *et al.* 1993). Il destino degli acidi grassi è diverso, infatti possono venire riarrangiati tramite complessi meccanismi, oppure, ed è la trasformazione più importante a carico di questi composti, possono andare incontro alla bioidrogenazione. La bioidrogenazione consiste nel saturare i doppi legami degli acidi grassi insaturi; il risultato complessivo è che all'uscita dal rumine, gli acidi grassi saturi prevalgono abbondantemente sugli acidi grassi mono- e polinsaturi.

La bioidrogenazione degli acidi grassi insaturi, viene operata da vari ceppi batterici, tra cui, il primo ad essere studiato è stato il *Butyrivibrio fibrisolvens* (Kepler *et al*, 1966).

Il processo di bioidrogenazione nel rumine può arrivare a modificare il 90% circa dei grassi insaturi ingeriti con la dieta (Bikerstaffe *et al*, 1972) ma, l'entità di questo fenomeno, è in funzione del tipo di fonte lipidica, dei tempi di transito ruminale e della tipologia delle popolazioni presenti nel rumine.

Un fattore che va ad interferire negativamente con l'attività batterica ruminale, a seguito dell'aumento del tenore lipidico della dieta (grassatura), è quello della riduzione della digestione della quota fibrosa, rappresentata prevalentemente dai foraggi (cellulosa). I lipidi ingeriti nella razione, esercitano un'azione meccanica sulle particelle nel rumine, le quali vengono ricoperte dal grasso creando una sorta di film (Harfoot *et al*, 1974). Questa barriera impedisce ai batteri ruminanti l'intimo contatto con il substrato fibroso, condizione necessaria per la digestione dello stesso. I microrganismi maggiormente interessati al fenomeno sono i batteri cellulolitici i quali, riducendo la loro azione, riducono parallelamente la produzione di acido acetico, diminuendone la quota disponibile per la sintesi dei grassi a livello della ghiandola mammaria.

Livelli di grassi superiori al 6-8% ingeriti con la dieta comportano un'azione depressiva nei confronti di alcuni ceppi batterici (in particolare i batteri metanogeni), i quali vanno a diminuire l'attività di sintesi proteica portando ad un peggioramento della digestione ed ingestione dei foraggi (Bittante *et al.*, 1999).

Anche la composizione della flora batterica ruminale subisce modificazioni a seguito di diete con elevati tenori lipidici. Prove condotte da Barsuhn e coll. (1988), hanno dimostrato che, a seguito della somministrazione di oleato di sodio, la flora ruminale ha ridotto la sua vitalità e numerosità, a causa di una "tossicità" operata dai grassi. Questo fenomeno si può spiegare con l'interazione tra le membrane cellulari dei batteri e gli acidi grassi che presentano proprietà idrofobiche.

Gli acidi grassi della serie satura, sembrano avere effetti differenti rispetto a quelli della serie insatura. Gli acidi grassi insaturi inibiscono il metabolismo microbico in misura superiore rispetto agli acidi grassi saturi (Maczulak *et al.* 1981, Chalupa *et al.* 1984). Gli stessi autori riportano che, l'attività batterica ruminale può subire minori interferenze, se il carbonio degli acidi grassi è legato alla glicerina o al calcio. Questo effetto si riflette positivamente nell'utilizzo di prodotti industriali già descritti quali i grassi saponificati che, passando indegradati nel rumine, diventano disponibili a livello intestinale.

1.3.2 Effetti sulla produzione quantitativa e qualitativa del latte

Il grasso nel latte si trova in emulsione sottoforma di una miscela di trigliceridi contenenti acidi saturi ed insaturi con un numero variabile di atomi di carbonio; tra gli acidi grassi insaturi predomina l'acido oleico. La quantità e la qualità del grasso del latte nei ruminanti varia in funzione di diversi fattori tra i quali: razza (Laweless *et al.*, 1999), età, fase di lattazione, livello produttivo, alimentazione e temperatura. Nel latte bovino, la quota di acidi grassi saturi è più alta rispetto agli insaturi (55,44 vs. 45,56% rispettivamente (*Tabella 1.4*)).

Tabella 1.4 – Composizione in acidi grassi della frazione lipidica del latte vaccino (Bikerstaffe, 1970 – modificato)

Acidi Grassi	Latte di vacca (mol/l)	(%)
Saturi		
<u>catena corta</u>		
C4 - butirrico	0,03	3,4
C6 - capronico	0,02	2,1
C8 - caprilico	0,01	0,9
C10 - caprinico	0,02	2,2
<u>catena lunga</u>		
C12 - laurico	0,04	4,3
C14 - miristico	0,02	1,8
C16 - palmitico	0,28	31,2
C18 - stearico	0,09	9,4
Totale grassi saturi	0,50	55,44
Insaturi		
C18:1 - oleico	0,36	40,4
C18:2 - linoleico	0,04	4,1
C18:3 - linolenico	-	
Totale grassi insaturi	0,40	44,56

Anche il management può modificare i tenori di grasso nel latte; secondo vari autori infatti (Sangiorgi 2000, Giussani 2005), le tecniche di mungitura (sistema e numero giornaliero delle mungiture), influiscono sulla quantità e qualità del latte prodotto.

Nei ruminanti la sintesi degli acidi grassi a catena corta avviene direttamente nella ghiandola mammaria a partire da nutrienti veicolati dal flusso circolatorio (acetato e β -idrossibutirrato). Gli acidi grassi saturi a catena lunga si ricavano dai lipidi plasmatici derivanti dalla mobilizzazione delle riserve corporee. Infine, gli acidi grassi mono insaturi derivano sia dalla sintesi endogena a partire degli analoghi saturi, sia dai grassi assunti con l'alimentazione; gli acidi grassi polinsaturi, derivano esclusivamente dai grassi alimentari (Mc Donald, 1992). Esperienze condotte da Dhiman *et al.* (1997), hanno messo in evidenza che l'utilizzo di semi di piante oleaginose, utilizzati come tale (come ad esempio la soia), non modifica il contenuto di grasso nel latte ed il contenuto di CLA. Solamente a seguito di trattamenti fisici, questa tipologia di alimenti, può portare all'aumento del contenuto qualitativo e quantitativo di lipidi nel latte. L'estrusione, ad esempio, è uno dei trattamenti che presenta maggiori risultati a livello

qualitativo e quantitativo dei parametri del latte (Chouinard *et al.*, 1997), aumentando il tenore di CLA.

Jensen nel 2002, ha raccolto tutta una serie di casistiche positive, negative o nulle, sull'influenza dei fattori dietetici nella modificazione della concentrazione dei CLA nel latte quali:

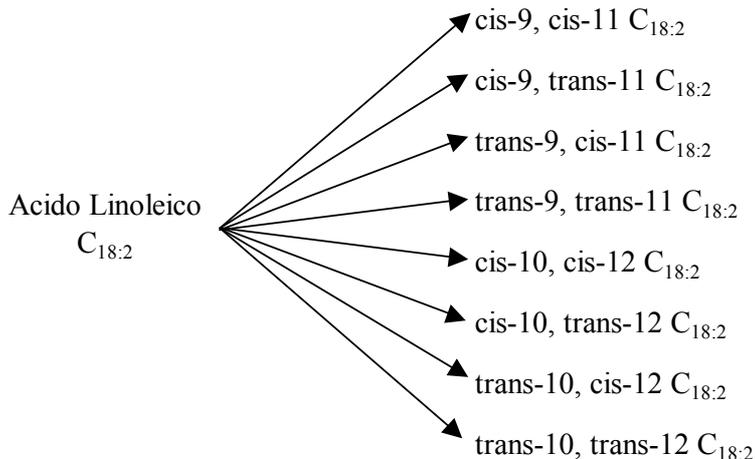
- aumento dei CLA a seguito di integrazione nella dieta di acidi grassi insaturi;
- aumento dei CLA con integrazione di sali di calcio di oli vegetali;
- azione nulla a seguito dell'aggiunta di semi crudi di piante oleaginose;
- azione positiva con semi che subiscono trattamenti fisici;
- azione minima con granelle o insilato di mais ad alto contenuto in olio;
- effetti minimi a seguito di aggiunta di grassi di origine animale
- effetti positivi tra vacche al pascolo vs. vacche alimentate con foraggi conservati;
- effetti positivi (in funzione della dose fornita) con integratori a base di CLA (se puri, rivelano costi di produzione troppo elevati);
- l'olio di pesce risulta avere effetti positivi;

Per finire, i livelli di coniugati dell'acido linoleico (CLA) e della serie insatura in generale, possono essere modificati nel latte, agendo su più livelli ed in particolare: a livello della dieta fornita, a livello ruminale modificando le popolazioni microbiche specifiche e per finire a livello di miglioramento genetico (anche la razza influenza il tenore quantitativo e qualitativo dei lipidi presenti nel latte).

1.3.2.1 I coniugati dell'acido linoleico – CLA

I coniugati dell'acido linoleico, sono un gruppo di composti che presentano doppi legami coniugati, formato da isomeri geometrici e di posizione dell'acido linoleico. L'acido linoleico è un acido grasso polinsaturo con due doppi legami presenti rispettivamente in posizione *cis* 9 e *cis* 12. I coniugati dell'acido linoleico, invece, presentano i doppi legami in posizione 9 e 11, o 10 e 12 assumendo sia forme *cis* che *trans* (Parodi, 1994). Le forme CLA dell'acido linoleico presentano 8 diverse configurazioni (*Figura 1.2*).

Figura 1.2 – Configurazioni possibili dei CLA.



Questi grassi, sia dal punto di vista nutrizionale che metabolico, hanno una notevole importanza. I coniugati dell'acido linoleico, vengono prodotti nel ruminante attraverso processi di bioidrogenazione della quota polinsaturata degli acidi grassi, oppure attraverso sintesi a livello mammario. Come già menzionato, il *Butyrivibrio fibrisolvens*, è ritenuto il responsabile di tale trasformazione a livello ruminale che, attraverso delle isomerasi endogene, va a catalizzare l'acido oleico ingerito con la dieta, trasformandolo in CLA (Kepler, 1966, 1967). Una quota di questi composti neoformati (isomeri dell'acido linoleico), passano nel torrente circolatorio, per poi passare nelle cellule mammarie ed essere incorporati infine nella frazione lipidica latte.

L'80% della sintesi dei CLA avviene a livello mammario per via enzimatica a carico dell'enzima Δ -9 desaturasi. Questo enzima, presente ad elevate concentrazioni a livello mammario, agisce direttamente sui prodotti dell'idrogenazione che avvengono nel ruminante; la bioidrogenazione è quindi un passaggio fondamentale e necessario per garantire quantità adeguate di substrato all'enzima descritto.

I coniugati dell'acido linoleico, se inseriti nella dieta (NRC 1996), svolgono un ruolo benefico nella salute umana:

- limitano l'insorgenza di malattie tumorali;
- riducono il colesterolo (aumento del colesterolo HDL);
- hanno un'azione protettiva del sistema cardiovascolare;
- prevengono l'aterosclerosi;
- riducono l'obesità attraverso la modificazione della deposizione del tessuto adiposo.

Grazie a questi importanti benefici apportati, numerosi sono gli sforzi per aumentare questi composti negli alimenti, sia per via naturale sia con sistemi industriali. In particolare gli alimenti che presentano alti contenuti di CLA, sono la carne ed i prodotti lattiero caseari.

1.3.2.2 Gli acidi grassi della serie $\omega 3$ e $\omega 6$

Un'altra categoria di lipidi ad elevato valore nutrizionale, è rappresentata dagli acidi grassi della serie $\omega 3$ e $\omega 6$. Questi simboli stanno ad identificare che gli acidi grassi in questione hanno dei doppi legami rispettivamente sui carboni in posizione 3 e 6 atomi a partire dall'estremità della catena che presenta il gruppo metilico. L'utilizzo di questi grassi nella dieta umana risulta molto importante, soprattutto dal punto di vista degli acidi grassi della serie $\omega 3$; infatti un rapporto sbilanciato tra le serie $\omega 6/\omega 3$ a favore degli $\omega 6$, comporta una maggiore probabilità di insorgenza delle malattie cardiovascolari (Simopoulos, 2002).

I valori di riferimento che consentono un apporto equilibrato di questi acidi grassi, sono compresi tra rapporti $\omega 6/\omega 3$ di 5:1 e 10:1. I più importanti acidi grassi della serie $\omega 3$ e $\omega 6$, sono riportati nella *tabella 1.5*.

Tabella 1.5 – Acidi grassi insaturi della serie $\omega 3$ e $\omega 6$.

Nome	Formula	Sigla	Serie
Acido α linolenico	$C_{18:3} n3$	ALA	$\omega 3$
Acido eicosapantanoico	$C_{20:5} n3$	EPA	$\omega 3$
Acido decosaenoico	$C_{22:6} n3$	DHA	$\omega 3$
Acido linolenico	$C_{18:2} n6$	LA	$\omega 6$
Acido γ linolenico	$C_{18:3} n6$	GLA	$\omega 6$
Acido arachidonico	$C_{20:4} n6$	AA	$\omega 6$

1.3.3 Effetti sulla salute delle bovine

Le principali malattie metaboliche riconducibili ad una scorretta alimentazione, derivano sia da carenze nutrizionali ma in egual misura da eccessi (Dalle Carbonare, 1994). I fenomeni di carenza energetica sono già stati descritti nel paragrafo introduttivo di questo capitolo; per quanto riguarda gli eccessi nutrizionali ne descriveremo di seguito le principali cause ed effetti. Una dieta troppo ricca di concentrati energetici, nel periodo dell'asciutta, porta ad uno squilibrio metabolico al momento del parto. Questo particolare problema, può portare alla sindrome della vacca grassa, particolarmente aggravato se in concomitanza del parto non avviene la fase di adeguamento alla dieta di lattazione (steaming-up). L'eccessivo stato di ingrassamento delle vacche può comportare problemi riproduttivi quali, difficoltà di parto, ritenzione di placenta e metriti, o a ripercussioni negative sulla lattazione stessa causando mastiti. L'eccessivo tenore energetico nella dieta, può portare all'insorgenza di malattie podali, quali la pododermatite, associabile comunque ad una scorretta igiene e cura della mandria. Come già descritto, inoltre, l'utilizzo di diete ad elevato contenuto lipidico, portano a dismicrobismi ruminali, nei quali l'attività batterica ruminale viene inibita o rallentata. La serie appena elencata di queste malattie metaboliche (chiamate "tecnopatie"), porta come risultato ad un calo delle produzioni, con ripercussioni più o meno gravi sulla produzione di latte o, peggio ancora, sull'intera lattazione.

Tutte queste cause sono fattori negativi per quanto riguarda il bilancio aziendale, gravando pesantemente sui costi di produzione per litro di latte; una corretta formulazione della dieta, associata ad una corretta conduzione della mandria e delle strutture, è sicuramente un aspetto che eleva il grado di professionalità di un'azienda.

2. Obiettivi

L'integrazione lipidica nelle diete destinate alle vacche da latte, è una pratica altamente diffusa negli allevamenti dove i livelli produttivi sono elevati. Attraverso questa strategia è possibile aumentare la concentrazione energetica della dieta senza modificare sostanzialmente l'ingestione di sostanza secca, che risulta limitata specialmente nella fase del picco di lattazione, periodo nel quale i fabbisogni sono invece molto elevati (Bittante *et al.*,1993). Sulla base di queste premesse è stata impostata una prova sperimentale con i seguenti obiettivi:

- Valutare le caratteristiche chimiche e fisiche dei principali integratori lipidici presenti sul mercato
- Valutare l'effetto dell'aggiunta di due integratori lipidici (un idrogenato ed un sapone) e della soia integrale tostata, sull'alimentazione delle bovine da latte ad alta produzione.
- Verificare se i diversi tipi di integrazione modificano il profilo acidico del latte, con particolare riguardo alla presenza di acidi grassi della serie $\omega 3$ e $\omega 6$ e di CLA (conjugated linoleic acids).

3. Materiale e metodi

La prova sperimentale è stata effettuata presso le strutture dell'Azienda Agraria Sperimentale "L. Toniolo" dell'Università di Padova situata all'interno del polo universitario di "Agripolis" nel Comune di Legnaro. La suddetta prova è stata suddivisa in due fasi: una prima fase definita "*fase preliminare*", nella quale sono stati valutati e scelti gli integratori lipidici inseriti successivamente nella prova, ed una seconda fase, denominata "*fase sperimentale*" nella quale gli integratori lipidici sono stati inseriti nella dieta per vacche da latte. La fase sperimentale ha avuto una durata complessiva di 5 settimane, con inizio il 24/07/2006 per concludersi il 27/08/2006.

3.1 Fase preliminare: valutazione dei diversi integratori lipidici

Nella fase preliminare, al fine di verificare i diversi integratori lipidici presenti nel mercato, sono stati testati diversi prodotti commerciali, più precisamente grassi derivati dalla palma di cui 3 idrogenati e 4 grassi saponificati. Il nome commerciale dei diversi prodotti era:

- Grassi idrogenati: SulGrass, Fat Green, HidroPalm
- Grassi saponificati: Megalac, Maxifat, Sapone, Magnapac.

Nei prodotti suesposti, sono state eseguite delle analisi quantitative e qualitative presso i laboratori del Dipartimento di Scienze Animali al fine di verificare la corrispondenza fra i dati analitici e le dichiarazioni riportate sul cartellino. Sono state inoltre eseguite delle analisi qualitative attraverso un'estrazione gas-cromatografica dei singoli acidi grassi.

3.1.1 Analisi chimiche

Sui 7 campioni sono state eseguite le analisi chimiche per la determinazione della sostanza secca, estratto etereo, ceneri e calcio, come riportato nei metodi di analisi per la valutazione degli alimenti d'impiego zootecnico (Martillotti *et al*, 1987).

Più precisamente le singole tecniche utilizzate sono state le seguenti:

-sostanza secca: essiccazione in stufa a 103°C (CNR – IPRA Q.8/1987 met 2.3);

-estratto etereo: Soxhlet (GUCE n° L 257/98)

-ceneri grezze: incenerimento in muffola (CNR – IPRA Q.8/1987 met 11.2)

-calcio : ICP – OES (AOAC 17 ED. 2000, .993.14)

Per quanto riguarda la determinazione del profilo acido complessivo di CLA (conjugated linoleic acid) e relative forme TRANS, presso il laboratorio del Dipartimento di Scienze Animali, è stata eseguita un'analisi gas cromatografica attraverso l'utilizzo di una metodologia interna (MI 02).

La rilevazione dell'energia lorda (EL) è stata eseguita con l'utilizzo di una bomba calorimetrica (CNR – IPRA Q.8, met 20.2).

Nei 7 campioni in oggetto, sono stati analizzati anche il numero di iodio (AOAC 17th Edition 2000-2003, .920.159) ed i perossidi (CNR – IPRA Q.8/1987, cap. 8)

Il numero di iodio si definisce come la quantità di alogeno, espressa in grammi di iodio, fissata in una quantità nota di sostanza grassa. Tale determinazione, è basata sulla proprietà degli alogeni di fissarsi per addizione ai doppi legami, pertanto il numero di iodio dà una misura del grado di insaturazione.

Il numero di perossidi si esprime in milliequivalenti di ossigeno attivo per kg di sostanza grassa. Il numero di perossidi attesta lo stato di ossidazione primaria di un grasso e quindi la sua tendenza ad irrancidire.

3.1.2 Analisi fisiche

Tutti gli integratori lipidici testati sono stati sottoposti a setacciatura (Retsc, 1985). Le fasi della setacciatura, comprendevano:

- pesatura con bilancia di precisione dei singoli setacci per determinarne la tara;
- preparazione di 2 campioni da 100 g per ogni materia prima;
- setacciatura del campione preparato con doppia ripetizione per diminuire l'effetto variabilità;
- estrazione e pesatura dei singoli setacci;
- pulizia accurata di ogni setaccio;
- riassettaggio dei setacci nel setacciatore.

Lo strumento utilizzato era un setacciatore elettromagnetico di tipo Retsch modello vibro capace di effettuare fino a 3000 vibrazioni al minuto ad una frequenza di 50 Hz con ampiezza di oscillazione variabile in continuo da 0 a 3 mm. La frequenza impostata nel setacciatore è stata di circa 1500 Vibrazioni al minuto per un tempo di 10 minuti per campione. Tutti i dati raccolti sono stati registrati su un foglio elettronico.

Il diametro geometrico medio (DGM) è stato calcolato secondo quanto suggerito da Ensor *et al.* (1970) secondo la seguente formula:

$$D_{gm} = \log^{-1} \left[\frac{\sum w_i \log d_i}{\sum w} \right]$$

$d_i = (d_{i-1} * d_{i+1})^{0,5}$ = diametro geometrico delle particelle presenti nell'i-esimo setaccio

w_i = percentuale di campione presente nell'i-esimo setaccio

Foto 3.1 - setacciatore utilizzato e fasi della setacciatura.



3.2 Fase sperimentale: protocollo adottato

La fase sperimentale ha avuto inizio il 24 luglio 2006 e, nel primo periodo della durata di due settimane, le bovine in prova sono state sottoposte ad un periodo di adattamento, durante il quale agli animali è stata gradualmente somministrata la dieta standard (specificata in seguito).

Terminata questa prima fase, nel periodo successivo che va dal 07 agosto al 27 agosto 2006, è iniziata la sperimentazione vera e propria con una durata complessiva di 21 giorni. In ogni singola giornata di prova veniva distribuito l'unifeed di base preparato mediante la miscela delle materie prime componenti la dieta, con un carro trincia-miscelatore di tipo verticale. La miscelata è stata versata ad una distanza dal fronte mangiatoia di circa 1 metro dall'apice del cumulo, in modo da assicurare una distanza di circa 20-30 centimetri tra il piede del cumulo e l'angolo del muretto della mangiatoia. A questo punto tutti gli animali presenti nei box oggetto di integrazione, venivano bloccati nelle autocatture. Nello spazio rimanente (tra cumulo ed autocatture), veniva versata l'integrazione oggetto di tesi con la tecnica del *top dressing* (mediante la distribuzione dell'alimento sopra il piede del cumulo della razione) in una quantità definita sulla base dei soggetti presenti.

3.2.1 Integratori somministrati

Gli integratori forniti alle bovine in prova erano composti da un grasso di palma idrogenato (HIDROPALM) ed un grasso di palma saponificato con dei sali di calcio (MAXIFAT). Ad un terzo gruppo sperimentale, è stata somministrata della SOIA INTEGRALE TOSTATA macinata grossolanamente (in mulino privo di griglia) in quantità tale da eguagliare i livelli di lipidi forniti dagli integratori elencati precedentemente.

La quantità complessiva di lipidi grezzi somministrata con i diversi integratori è stata pari a 325 g/capo. Le singole quantità di ogni integratore lipidico sono indicate nella *Tabella 3.1* e sono state calcolate in funzione della sostanza secca e del tenore lipidico di ogni singolo integratore.

Tabella 3.1 - Quantità di integratore fornito per box

Nome commerciale	Sostanza Secca	Estratto Etereo	quantità (g) s.s. / vacca	quantità (g) t.q. /vacca	quantità (g) t.q. / gruppo
HIDROPALM	99,9	100,0	325	400	2400
MAXIFAT	96,5	84,5	325	325	1950
SOIA	92,5	22,4	325	1570	9400

Le bovine, durante l'assunzione dell'integrazione, venivano mantenute in cattura e successivamente (dopo mezz'ora circa) venivano lasciate libere. In seguito il cumulo, durante l'arco della giornata, veniva avvicinato a mano a mano che gli animali si alimentavano; questo sistema adottato, ha permesso di massimizzare l'ingestione degli integratori forniti evitando il più possibile la presenza di residui degli stessi. Tutte le operazioni sopraelencate, sono state eseguite dagli operatori di stalla adeguatamente preparati ed istruiti per il caso. Nelle foto qui sotto riportate, possiamo notare le fasi sopradescritte.

Foto 3.2 – Fase di integrazione e cattura degli animali



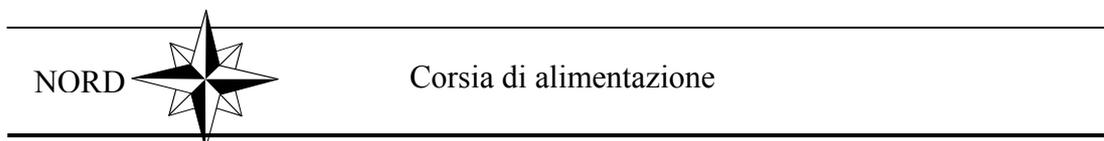
3.2.2 Caratteristiche delle bovine in prova

Nella prova sperimentale sono state utilizzate 24 bovine in lattazione principalmente di razza Frisona eccetto tre soggetti rispettivamente delle razze Pezzata Rossa Italiana, Bruna e Burlina, ripartite in box differenti. Tutti i soggetti identificati sono stati successivamente suddivisi in 4 gruppi sperimentali, omogenei secondo i seguenti criteri: produzione di latte, l'ordine di parto, stadio di lattazione e Body Condition Score. I 4 gruppi formati sono stati immessi in altrettanti box (*figura 3.1*) precisamente il numero 1,2,3 e 4. Ad ogni diverso box corrispondeva una tesi diversa, ovvero:

- box 1: integrazione di grasso idrogenato ("H")
- box 2: soia integrale tostata ("S")
- box 3: grasso saponificato ("M")
- box 4: gruppo di controllo ("C")

Figura 3.1 - Distribuzione dei capi in prova all'interno dei box (A.=.autoalimentatori)

BOX 1 HIDROPALM "H"	BOX 2 MAXIFAT "M"	BOX 3 SOIA INT. TOST. "S"	BOX 4 CONTROLLO "C"
A			A
61 Anice 22 Ubaldina 50 Zanzibar 36 Valzer 29 Valentina 60 Aska	53 Zaratustra 40 Zeudi 56 Zebù 42 Zuleika 14 Ursula 44 Gioia	30 Venus 39 Voodo 57 Zork 54 Zucca 840 Tamara 38 Vendetta	63 Ambra 37 Virgo 46 Zombi 55 Zucchina 59 Alice 701 Sama



Nella *Tabella 3.2* possiamo notare come le caratteristiche medie delle bovine in prova siano omogenee, sia dal punto di vista di gruppo, sia per singolo box. L'ordine di parto del gruppo è pari in media a 2, con uno scostamento di 1,1. Analizzando nel complesso

la produzione di latte, si osserva come il range sia molto ampio variando da un minimo di 20 kg/d ad un massimo di circa 40 kg/d giorno. I giorni di lattazione delle bovine in prova sono in media 129, con una deviazione standard di 86,7 giorni; questo dato rileva come il gruppo sia in maggioranza composto da vacche vicine al picco di lattazione. Il dato medio del BCS (Body Condition Score) è risultato di 2,9, caratterizzato da una buona omogeneità di condizione corporea del gruppo.

Tabella 3.2 - Dati produttivi delle bovine al 24/07/2006

Matricola Aziendale	Box	Razza*	Ordine di Parto	DIM** (d)	Produzione latte (kg/d)	BCS***
61	1	FI	1	165	26,1	3,25
22	1	FI	3	24	35,1	2,5
50	1	FI	2	24	25,4	2,25
36	1	FI	2	278	24,3	3
29	1	PR	3	42	34	3
60	1	FI	1	186	28,1	2,75
53	2	FI	1	165	29	3
40	2	FI	2	201	26,8	2,75
56	2	FI	1	184	26,4	3
42	2	FI	2	106	39,2	2,75
14	2	FI	4	21	36,7	2,75
44	2	Burl	2	120	24,4	3,5
30	3	FI	2	3	20	3
39	3	FI	2	27	39	2,5
57	3	FI	1	207	36,1	3
54	3	FI	1	240	24,4	3
840	3	FI	4	181	29,7	2,75
38	3	FI	2	178	24,7	3
63	4	FI	1	31	30,8	2,75
37	4	FI	2	129	35,2	2,75
46	4	Br	2	5	29,2	2,75
55	4	FI	1	260	25,1	3
59	4	FI	1	138	24,1	2,75
701	4	FI	5	181	24,5	3,25
		Media	2,0	129,0	29,1	2,9
		ds	1,1	86,7	5,4	0,3
		Max	5,0	278,0	39,2	3,5
		Min	1,0	3,0	20,0	2,3

* Razza = FI (Frisona Italiana); PR (Pezzata Rossa); Burl (Burlina); Br (Bruna)

**DIM = Days in milk

***BCS = Body Condition Score

Dalla ripartizione nei diversi box (*Tabella 3.3*), possiamo evidenziare come la distribuzione delle bovine nelle 4 tesi sperimentali abbia garantito una sufficiente omogeneità nei parametri considerati.

Tabella 3.3 - Dati medi produttivi suddivisi per singolo box

n° BOX	Ordine di Parto	DIM* (d)	Produzione latte (kg/d)	BCS**
BOX 1				
Media	2,0	119,8	28,8	2,8
ds	0,9	105,7	4,6	0,4
Max	3,0	278,0	35,1	3,3
Min	1,0	24,0	24,3	2,3
BOX 2				
Media	2,0	132,8	30,4	3,0
ds	1,1	65,9	6,1	0,3
Max	4,0	201,0	39,2	3,5
Min	1,0	21,0	24,4	2,8
BOX 3				
Media	2,0	139,3	29,0	2,9
ds	1,1	99,1	7,4	0,2
Max	4,0	240,0	39,0	3,0
Min	1,0	3,0	20,0	2,5
BOX 4				
Media	2,0	124,0	28,2	2,9
ds	1,5	94,6	4,4	0,2
Max	5,0	260,0	35,2	3,3
Min	1,0	5,0	24,1	2,8

*DIM = Days in milk

**BCS = Body Condition Score

3.2.3 Caratteristiche della dieta somministrata

La dieta somministrata alle bovine era composta dall'unifeed di base più un'integrazione per le bovine più produttive attraverso l'autoalimentatore.

3.2.4 Composizione della dieta di base

La dieta di base era composta da diverse materie prime tra le quali fieno di prato stabile ed erba medica disidratata per quanto riguarda la componente fibrosa, per poi passare alla frazione energetica formata da silomais, mangime commerciale “Agripolis”, farina di estrazione di soia, polpe di bietola in pellets e farina di mais.

Venivano di seguito aggiunti manualmente gli integratori minerali (carbonato di calcio e bicarbonato di sodio). (Tabella 3.4). Questa razione garantiva il soddisfacimento di energia e nutrienti per una vacca in lattazione con produzioni giornaliere di latte pari a 28 kg/d. Tale quantità riportata in tabella 3.4 rappresenta la cosiddetta “dose giornaliera”: il numero di dosi somministrate a ciascun box veniva modificato in relazione alla quantità di residui alimentari lasciati il giorno precedente.

Tabella 3.4 - Ingredienti e quantità dell'unifeed di base

ingredienti	quantità (kg)
Fieno di prato stabile PS	4,80
Medica Disidratata	2,50
Silomais	22,00
Acqua	6,50
Soia farina di estrazione	2,30
Mais farina	2,00
Mangime "Agripolis"	2,00
Polpe di Bietola	1,70

Alle lattifere più produttive attraverso gli autoalimentatori posti in stalla, veniva somministrata una quota di alimenti supplementari, in ragione della quantità di latte prodotta. L'integrazione era composta dal mangime “Agripolis” in pellets, più 3 diverse materie prime: farina di mais, farina di estrazione di soia e farina di orzo. Le bovine che ricevevano questa integrazione erano divise per gruppi di produzione

Tabella 3.5 - Integrazione per classi di produttività

Classi di Produzione	Mangime	Soia	Mais	Orzo
28 - 35 kg / d	2,5	3	2,5	0,7
35 - 40 kg / d	2,8	3,3	2,8	0,8
> 40 kg / d	3	3,8	3,6	1,1

3.2.5 Controlli sperimentali

Durante la fase sperimentale sono stati effettuati dei rilievi, per valutare gli effetti delle diverse integrazioni.

Ad inizio della prova, ai fini di costituire gruppi omogenei, è risultato di fondamentale importanza valutare lo stato nutrizionale e di condizione corporea delle bovine, mediante il Body Condition Score (BCS).

Sono poi stati prelevati, i campioni di tutte le materie prime che compongono la dieta, compresi gli integratori. Il prelievo degli alimenti è stato ripetuto ad ogni cambio partita. E' stata poi eseguita una prima setacciatura dell'unifeed per valutare la frazione fibrosa della dieta.

Una volta iniziata la prova sperimentale, si sono effettuati prelievi settimanali del latte, rilievi giornalieri dei residui alimentari e, nell'ultima settimana di prova sono stati eseguiti prelievi, oltre che di latte, di sangue e di liquido ruminale ed è stata realizzata una seconda setacciatura dell'unifeed per controllare se la trinciatura della razione era rimasta omogenea nel tempo. Durante tutto il periodo sperimentale, alla fine di ogni giornata, sono stati pesati i residui alimentari in greppia. Nella *tabella 3.5* possiamo osservare lo schema riassuntivo dei diversi rilievi sperimentali effettuati durante tutto l'arco dell'esperimento.

Tabella 3.6 – Protocollo sperimentale

Fase Sperimentale		BCS*	prelievo alimenti	setacciatura unifeed	prelievi latte	prelievo sangue	prelievi ruminali	consumi
periodo di adattamento	1 settimana	●	●					●
	2 settimana							●
periodo sperimentale	3 settimana			●	●			●
	4 settimana				●			●
	5 settimana		●	●	●	●	●	●

* Body Condition Score

3.2.6 Valutazione del BCS

All'inizio della fase di adattamento, su ciascun animale è stato rilevato il Body Condition Score. Questa valutazione è stata eseguita da un tecnico esperto tramite l'attribuzione ai singoli soggetti, di un punteggio che va da 1 a 5 con sottoclassi di 0,25 punti (Edmonson et al., 1989).

3.2.7 Analisi fisiche e chimiche della razione

Al fine di valutare le diverse frazioni delle materie prime che componevano la dieta, è stata eseguita la granulometria di tutti gli alimenti mediante il setacciatore tipo Retsch presente nei laboratori dell'Azienda Agraria Sperimentale. La metodologia adottata è stata la stessa utilizzata nel caso degli integratori lipidici (vedi paragrafo 3.1.2).

Allo stesso modo, per valutare la distribuzione delle particelle dell'unifeed è stata eseguita la setacciatura attraverso l'utilizzo del setacciatore PSPS (Pennsylvania State Particle Separator), composto da due setacci (del diametro di 19 mm e 8 mm rispettivamente) ed un fondo collettore (*foto 3.3*), secondo la procedura descritta da Heinrichs e Kononoff (2002). Ogni campione di unifeed è stato versato nella griglia superiore (19 mm) ed è stato agitato il tutto orizzontalmente in un piano liscio per 5 volte ripetute per ogni lato. Il procedimento è stato ripetuto per due volte. Ogni campione ha ricevuto un totale di 40 oscillazioni di 17 cm di corsa con una frequenza di 1.1 Hz. Il totale del materiale raccolto per ogni setaccio e nel fondo del setacciatore, è stato pesato e calcolato in percentuale rispetto al totale pesato. Tutte le operazioni sono state effettuate dal medesimo operatore. Con i dati risultanti è stata calcolata una cumulata utilizzando il sistema di calcolo della Pennsylvania State University.

Foto 3.3 – Separatore Penn State con le diverse frazioni



3.2.7.1 Analisi chimiche

Tutte le analisi chimiche sono state eseguite presso i laboratori del Dipartimento di Scienze Animali quali il L.A.Z. (Laboratorio Agro Zootecnico) ed il L.C.Q.A. (Laboratorio per la Certificazione e la Qualità degli Alimenti).

Il prelievo delle diverse materie prime eseguite ad inizio e durante la prova è stato eseguito al fine di valutare la composizione chimica reale della razione. In particolare, per ogni materia prima componente la dieta di base, sono stati realizzati i controlli analitici di cartellino (analisi tipo - Weende), la determinazione analitica delle diverse frazioni fibrose con la metodica analitica Van Soest (1991) e l'amido attraverso l'utilizzo della tecnica HPLC (High Pressure Liquid Cromatography).

In particolare presso il laboratorio L.A.Z. del Dipartimento di Scienze Animali si sono effettuate le seguenti determinazioni con le seguenti metodiche e tecniche:

- sostanza secca: essiccazione in stufa a 103°C (CNR – IPRA Q.8/1987 met 2.3);
- proteina greggia: Kjeldhal (AOAC 17 ED. 2000-2003, .976.05)
- estratto etereo: Soxhlet (GUCE n° L 257/98)
- ceneri gregge: incenerimento in muffola (CNR – IPRA Q.8/1987 met 11.2)
- fibra greggia: tecnica Ankom (CNR – IPRA Q.8/1987 met 7.2)
- amido totale: tecnica HPLC (MI 03)
- NDF: tecnica Ankom (CNR – IPRA Q.8/1987 met 12.2)
- ADF: tecnica Ankom (CNR – IPRA Q.8/1987 met 13.2)
- ADL: digestione acida (CNR – IPRA Q.8/1987 met 14.2)
- AIA: incenerimento in muffola (CNR – IPRA Q.8/1987 met 14.2)

3.2.8 Controllo della produzione e della qualità del latte

I dati relativi alla quantità di latte prodotto per singolo capo, sono stati rilevati automaticamente dall'impianto computerizzato annesso alla sala mungitura e collegato con il collare di ogni animale. Questi dati venivano rilevati ad ogni giornata di prova, sia nella mungitura della mattina che alla sera.

I campioni di latte, sono stati prelevati durante le tre settimane della fase sperimentale e più precisamente al 9, 16 e 23 agosto.

La mungitura della mattina veniva effettuata alle ore 5:30, mentre la mungitura serale alle ore 17:00.

Foto 3.4 – Bovine in mungitura, fase di prelievo latte



Il prelievo consisteva nella raccolta di 3 campioni di latte per bovina riempiendo mezza provetta con il latte munto alla mattina e, la rimanente parte raccolto nella mungitura serale.

Le provette raccolte per ogni vacca erano così composte:

- 1 provetta da 50 ml per analisi quantitativa e qualitativa degli acidi grassi
- 1 provetta da 50 ml addizionata di conservante (Bronopol tecnico – 2 bromo, 2 nitro, 1-3 propandiolo in quantità pari a 0,02 g/100 ml latte) per l'analisi qualità
- 1 provetta da 100 ml per analisi attitudine casearia del latte

I campioni destinati all'analisi del profilo acidico degli acidi grassi presso le strutture dei laboratori del Dipartimento di Scienze Animali, una volta raccolti, sono stati conservati attraverso il congelamento ad una temperatura di -18°C .

La determinazione dell'acidogramma, dei CLA e delle forme trans degli acidi grassi, dopo un opportuno e completo scongelamento dei campioni, è stata eseguita con una corsa gas cromatografica del grasso estratto (metodo MI 02, gas cromatografo).

L'estrazione del grasso è stata realizzata mediante centrifugazione delle provette per 10 minuti a 3000 giri/min, con l'aiuto di un apposito cucchiaino; il grasso stratificato in superficie è stato tolto e messo in un imbuto dotato di filtro e riempito per metà di sodio solfato anidro. L'imbuto contenente il grasso è stato quindi lavato con 20 ml di solvente (cloroformio) e raccolto in un pallone da 50 ml. Il campione così ottenuto è stato fatto evaporare con evaporatore rotante sottovuoto ad una temperatura di 37°C . Il grasso raccolto è stato successivamente pesato (40 mg) e trasferito in una provetta in pirex da 5 ml con tappo in teflon. A questo punto il campione è stato preparato per essere iniettato nel gas cromatografo per la fase di transesterificazione secondo quanto descritto da Christie (1992) e da Chouninard *et al.* (1999).

I rimanenti campioni sono stati refrigerati alla temperatura di $+4^{\circ}\text{C}$ fino al giorno successivo al prelievo, nel quale sono state effettuate le analisi. Le analisi latte qualità e quelle di attitudine casearia, sono state realizzate presso il Laboratorio Latte dell'Istituto per la Qualità e le Tecnologie Agroalimentari di Veneto Agricoltura situato a Thiene in provincia di Vicenza.

I parametri analizzati e le metodiche utilizzate presso queste strutture, sono state:

- Composizione chimica:
 - grasso: MPU FIL-IDF 141C:2000
 - proteine: MPU FIL-IDF 141C:2000
 - lattosio: MPU FIL-IDF 141C:2000
 - residuo secco magro: MPU FIL-IDF 141C:2000

Caratteristiche microbiologiche:

- conta delle cellule somatiche – SCC: MPU FIL-IDF 148 A:1995 met.C
- Parametri lattodinamografici:
 - tempo di coagulazione, r: MPI 1-02-015 – 1999 rev.2.0
 - velocità di formazione del coagulo, K20: MPI 1-02-015 – 1999 rev.2.0
 - consistenza del coagulo, a30: MPI 1-02-015 – 1999 rev.2.0
 - tipo lattodinamografico: MPI 1-02-015 – 1999 rev.2.0
 - acidità titolabile, °SH: MPI 1-02-017 – 2001 rev.2.1
 - acidità potenziometrica, pH: MPI 1-02-017 – 2001 rev.2.1

I parametri lattodinamografici su esposti si determinano con una metodica di tipo meccanico con l'ausilio dello strumento Formagraph. Esso determina i tre parametri tipici del profilo lattodinamografico ovvero:

- r, tempo di coagulazione (min): è il tempo dall'aggiunta del caglio alla formazione del primo flocculo
- K20, tempo di rassodamento (min): esprime la velocità con cui procede la sineresi e cioè la coagulazione con relativo spurgo di siero
- a30, consistenza del coagulo (mm): esprime la consistenza della cagliata ad un tempo standard

3.2.9 Analisi dei parametri ematici

Nell'ultimo giorno di prelievo latte, sono stati eseguiti i prelievi di sangue a tutti i soggetti presenti nella prova. Il sangue è stato prelevato a due ore dalla distribuzione dell'unifeed. Gli animali sono stati posti in cattura ed il prelievo è stato eseguito per via giugulare, servendosi di provette sottovuoto contenenti litio-eparina e dotate di ago sterile. Nella stessa giornata, i campioni prelevati sono stati consegnati al laboratorio analisi chimico cliniche dell'Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie di Legnaro area igiene dell'ambiente e produzioni zootecniche, per la determinazione del profilo metabolico delle bovine.

I parametri analizzati sono stati i seguenti:

- Proteine totali, albumine e globuline;
- Urea;

- Glucosio;
- Colesterolo e NEFA (Not Esterificated Fatty Acids)
- Bilirubina totale, bilirubina diretta, bilirubina indiretta, ast, ggt, ck;
- Calcio fosforo e magnesio;
- PCV (Packed Cells Volume).

Foto 3.5 – Fase di prelievo del sangue



3.2.10 Prelievo e analisi del liquido ruminale

Nel medesimo giorno di prova (23 agosto), sono stati effettuati i prelievi di liquido ruminale a ciascun capo in prova. Il prelievo è stato fatto a 3 ore di distanza dall'inizio del pasto tramite l'utilizzo di una sonda esofagea collegata ad una pompa per il vuoto.

Il liquido raccolto ed opportunamente filtrato tramite della garza sterile, è stato messo in appositi contenitori e successivamente trasportato nel laboratorio dell'azienda agraria dove sono stati misurati i valori di pH con pHmetro opportunamente tarato.

Ogni campione di liquido ruminale è stato poi trasferito in due provette addizionate di acido metafosforico al 25% e successivamente congelato alla temperatura di -18°C .

In un secondo tempo, presso i laboratori del Dipartimento di Scienze Animali, ai campioni di liquido ruminale, sono stati determinati gli AGV (acidi grassi volatili) e l' N-NH_3 (azoto ammoniacale).

3.2.10.1 Determinazione degli Acidi Grassi Volatili e dell'azoto ammoniacale

L'analisi degli Acidi Grassi Volatili è stata eseguita dopo un opportuno scongelamento a temperatura ambiente. A questo punto le provette sono state centrifugate a 8000 giri/min, per 10 minuti. Il surnatante è stato successivamente filtrato ed il liquido rimanente raccolto in una provetta. Con l'utilizzo di una pipetta automatica è stato prelevato 1 ml di liquido e addizionato con 200 μl di standard interno. Le *vials* contenenti i campioni sono state inserite nel campionatore automatico e l'identificazione degli AGV è avvenuta mediante confronto della curva di calibrazione (Osl, 1988). Il calcolo quantitativo è avvenuto con un metodo interno.

L'azoto ammoniacale è stato analizzato e calcolato con l'utilizzo di un apposito elettrodo che misurava la differenza di potenziale in mV secondo la metodologia indicata da Martillotti (CNR – IPRA Q.8/1987 met 4.4).

Foto 3.6 – Prelievo del liquido ruminale



3.3 Elaborazione statistica dei dati raccolti

Tutti i dati prodotti nelle diverse fasi della prova sperimentale, sono stati elaborati e sottoposti ad analisi della varianza utilizzando il pacchetto statistico SAS/STAT (2000). Per quanto riguarda la produzione di latte e la qualità del latte è stato il seguente modello:

$$y_{ijk} = \mu + \alpha_i + \beta(\alpha)_{ij} + \varepsilon_{ijk}$$

dove μ = media generale; α_i = effetto della tesi sperimentale (n: 1-4); $\beta(\alpha)_{ij}$, effetto dell'animale entro tesi; ε_{ijk} = errore residuo. All'interno della tesi sperimentale sono stati effettuati i confronti a coppie.

Per quanto riguarda le analisi del sangue e i parametri relativi al liquido ruminale è stato un modello più semplice:

$$y_{ijk} = \mu + \alpha_i + \varepsilon_{ijk}$$

Dove:

- μ = media generale;
- α_i = effetto della tesi sperimentale (n: 1-4);
- ε_{ijk} = errore residuo.

All'interno della tesi sperimentale sono sempre stati effettuati i confronti a coppie.

4. Risultati e discussione

4.1 Fase preliminare: valutazione dei diversi integratori lipidici

Come indicato nei materiali e metodi la fase preliminare della prova ha valutato alcune caratteristiche chimiche e fisiche degli integratori lipidici (sia idrogenati che saponi). I dati ottenuti dalle analisi di laboratorio sono anche stati comparati con quelli dichiarati nel cartellino.

4.1.1 Analisi chimiche

I grassi idrogenati (*Tabella 4.1*) hanno presentato un contenuto di sostanza secca pari mediamente a (99.9 ± 0.07) e un corrispondente valore di lipidi grezzi del 100%. Il contenuto di ceneri è risultato in tutti e 3 i campioni molto basso (0.1 ± 0.04). I campioni di sapone contenevano una certa quota di acqua ($ss:96.4 \pm 0.34$) ed un contenuto lipidico molto più basso degli idrogenati (84.8 ± 0.56). Le ceneri sono risultate pari mediamente al (15.5 ± 0.47) e di queste (9.7 ± 0.63), il 62.3 % è stato rappresentato dal calcio derivante dal processo di saponificazione.

Tabella 4.1 - Analisi chimica degli integratori

Nome	ss %	ee (%ss)	ceneri (%ss)	Ca mg/kg ss
Sul Grass	99,8	100,3	0,08	
Agrienergy Fat green	100,0	100,1	0,02	
Hidropalm	99,9	100,2	0,07	
media	99,9	100,2	0,1	
ds	0,07	0,09	0,04	
Mega lac	96,7	84,3	15,57	10,1
Sapone	96,2	85,0	15,95	8,9
Maxi fat	96,0	84,5	15,70	9,5
Magnapac	96,7	85,6	14,86	10,2
media	96,4	84,8	15,5	9,7
ds	0,34	0,56	0,47	0,63

Per quanto riguarda il profilo acido (*Tabella 4.2, Grafici 4.1 e 4.2*), nel caso degli idrogenati la quota maggiore è data dal C16 (acido palmitico) (52.1 ± 10.3) e dal C18 (acido stearico) (41.4 ± 8.8), che raggiungono insieme una percentuale del 93.5 %. Fa eccezione uno dei tre idrogenati (Fat Green) nel quale il C16 (acido palmitico) rappresenta circa i 2/3 del totale e il C18 (acido stearico) un terzo.

Altri acidi grassi presenti in minore quantità sono l'acido laurico (C12) e l'acido oleico (C18:1).

Nel gruppo di saponi il profilo acido è sostanzialmente diverso con una prevalenza di acido palmitico (C16) (47.5 ± 1.6) e di acido oleico (C18:1) (36.2 ± 0.3) e quantità inferiori di linoleico (C18:2) e stearico (C18). Tutti i dati riportati nella tabella sono espressi come percentuale sul totale degli acidi grassi. Sia dal punto di vista quantitativo che qualitativo nei grassi idrogenati, non sono risultate grandi differenze, mentre nei grassi saponificati la quantità di grasso dichiarato nel cartellino risultava superiore a quella effettivamente presente arrivando ad una differenza percentuale di -2.5% (dichiarato vs reale) sul valore di estratto etereo.

Tabella 4.2 - Profilo acido degli integratori

Nome	c14 %	c16 %	c18 %	c18:1 %	c18:2 %	c20 %
	Miristico	Palmitico	Stearico	Oleico	Linoleico	Arachidonico
Sul Grass	1,3	46,7	46,3	4,0	0,1	0,4
Agrienergy Fat green	1,9	63,9	31,2	0,7	0,3	0,3
Hidropalm	1,2	45,6	46,7	5,2	0,1	0,5
media	1,5	52,1	41,4	3,3	0,1	0,4
ds	0,4	10,3	8,8	2,3	0,1	0,1
Mega lac	1,8	45,3	4,3	36,5	8,3	0,3
Sapone	1,2	48,5	4,3	36,5	8,1	0,3
Maxi fat	1,2	47,5	5,5	35,8	8,3	0,3
Magnapac	1,1	48,7	4,4	36,1	8,4	0,3
media	1,3	47,5	4,6	36,2	8,3	0,3
ds	0,3	1,6	0,6	0,3	0,1	0,0

Grafico 4.1 - Rapporto fra acidi grassi saturi e insaturi negli integratori

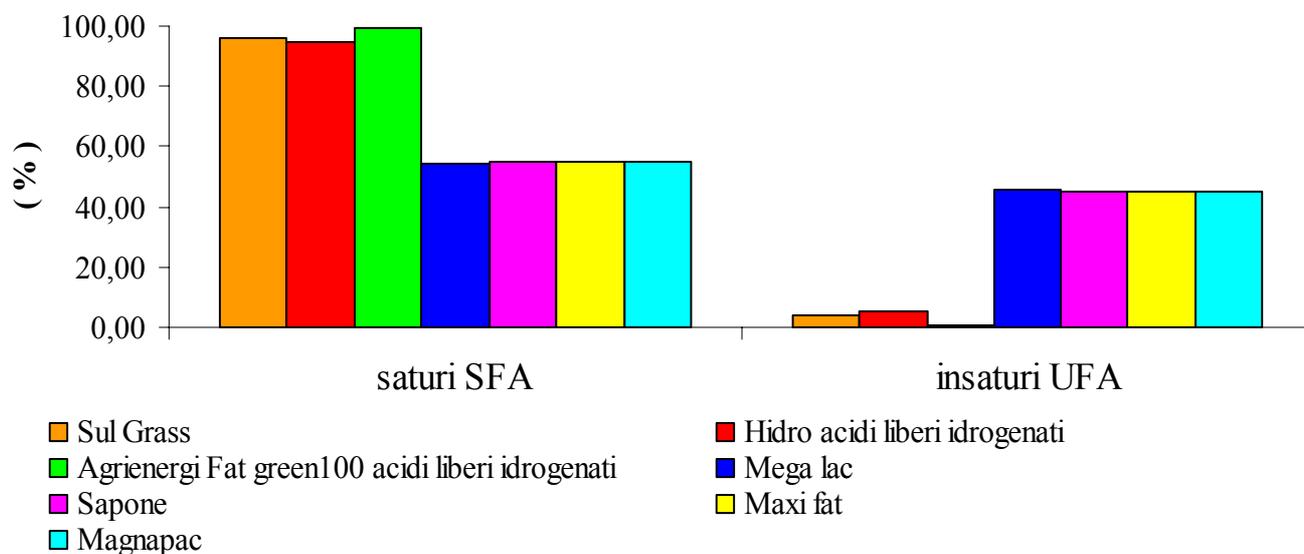
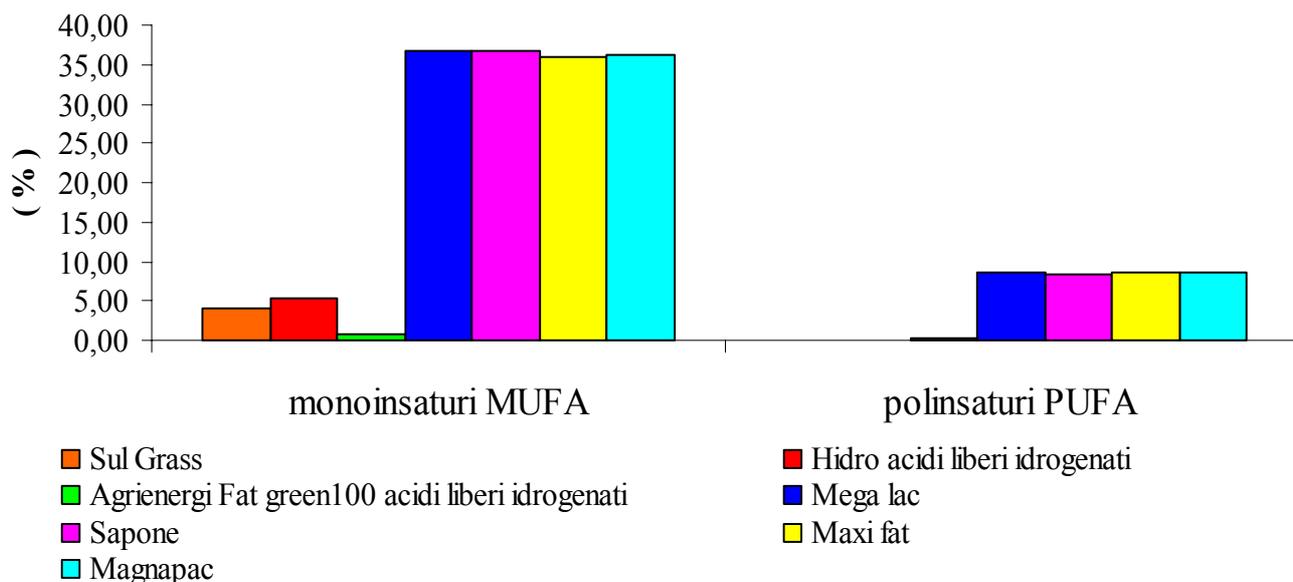


Grafico 4.2 - Rapporto fra acidi grassi monoinsaturi e polinsaturi negli integratori



Relativamente al contenuto energetico (*Tabella 4.3*) rilevato in bomba calorimetria adiabatica, gli integratori hanno evidenziato livelli di energia lorda superiori negli idrogenati (39.08 ± 0.15) rispetto ai saponi (34.04 ± 0.37).

Il numero di iodio, che indica il grado di insaturazione, risulta ovviamente molto basso negli idrogenati trattandosi di complessi di acidi grassi saturi (7.67 ± 5.35); nello stesso modo il numero di perossidi, che indica il grado di stabilità dei grassi, è risultato molto basso (pari a 2.15 ± 2.01) indicando una bassa tendenza all'irrancimento.

Tabella 4.3 – Valori energetici e qualità del grasso degli integratori

Nome	EL (MJ/Kg ss)	N° iodio (g I)	Perossidi (meq O2/Kg ss)
Sul Grass	38,90	11,1	2,48
Agrienergy Fat green	39,18	1,5	0
Hidropalm	39,15	10,4	3,98
media	39,08	7,67	2,15
ds	0,15	5,35	2,01
Mega lac	33,60		
Sapone	34,49		
Maxi fat	33,96		
Magnapac	34,09		
media	34,04		
ds	0,37		

L'analisi del numero di Iodio e dei perossidi per quanto riguarda i grassi saponificati, non è stata eseguita in quanto i sali di calcio occupano i doppi legami degli acidi grassi.

4.1.2 Confronto dati di cartellino

I dati ottenuti dalle analisi di laboratorio sono stati confrontati con quelli riportati nei cartellini dei diversi integratori (per quelli disponibili).

Dal confronto (Tabella 4.4) emerge come, nel caso dei saponi, il contenuto di lipidi grezzi dichiarato sia superiore mediamente di 2-3 punti percentuali rispetto ai valori di laboratorio. Corrispondentemente il contenuto di ceneri è risultato più basso nel cartellino rispetto ai valori accertati.

Tabella 4.4 - Analisi chimica degli integratori: dati di cartellino

Nome	ss %	ee (%ss)	ceneri (%ss)	Ca mg/kg ss
Sul Grass				
Agrienergy Fat green	99,0	85,9		
Hidropalm	99	99,0	0,05	
Mega lac				
Sapone				
Maxi fat	96,9	86,9	12,6	
Magnapac	96,5	87,0	13,0	9,3

Relativamente al profilo acido i valori accertati corrispondono con quelli dichiarati tranne nel caso del Fat Green nel quale il C16 e C18 sono in quantità molto simile nel cartellino mentre i valori di laboratorio davano un rapporto di questi acidi pari a circa 2:1 (Tabella 4.5).

Tabella 4.5 - Profilo acidico degli integratori: dati di cartellino

Nome	c14 % Miristico	c16 % Palmitico	c18 % Stearico	c18:1 % Oleico	c18:2 % Linoleico	c20 % Arachidonico
Sul Grass						
Agrienergy Fat green	1,5	47,0	48,0	2,0		0,5
Hidropalm	3,0	42,0	45,0	6,0	0,5	0,5
Mega lac						
Sapone						
Maxi fat						
Magnapac	1,5	44,0	5,0	40,0	9,5	

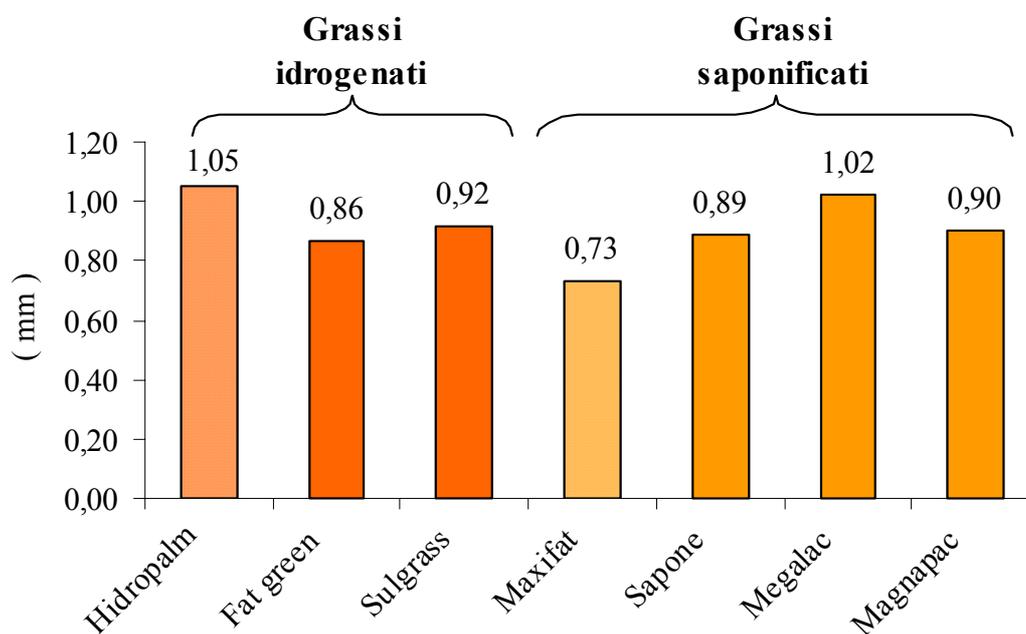
4.1.3 Analisi fisiche

La procedura di setacciatura adottata ha permesso di valutare la distribuzione granulometria degli integratori lipidici e calcolare il diametro geometrico medio (dgm) delle particelle. I risultati ottenuti (Tabella 4.6, Grafico 4.3) indicano che esiste una certa variabilità nei valori di dgm sia all'interno degli idrogenati che dei saponi. Mediamente i valori nelle due categorie di integratori sono pari a 0.94 ± 0.1 e 0.89 ± 0.12 rispettivamente per grassi idrogenati e saponificati.

Tabella 4.6 - Distribuzione granulometrica delle particelle degli integratori

	Ø setacci (mm)								
	>4.75	>2.36	>1.18	>0.60	>0.30	>0.15	>0.075	>0.038	fondo
Hidropalm	0,85	39,36	51,49	7,91	0,39	0,00	0,00	0,00	0,00
Fat green	0,42	15,15	36,87	21,48	15,94	6,86	2,74	0,54	0,00
Sulgrass	0,22	0,88	19,59	70,12	8,87	0,33	0,00	0,00	0,00
Maxifat	0,00	8,03	22,93	29,91	24,41	10,29	3,81	0,62	0,00
Sapone	3,29	14,76	19,23	28,20	21,83	9,03	3,25	0,42	0,00
Megalac	7,05	20,54	17,69	22,60	17,72	9,35	4,19	0,87	0,00
Magnapac	4,20	14,15	20,47	27,55	20,76	8,95	3,35	0,56	0,00

Grafico 4.3 – Diametro geometrico medio degli integratori

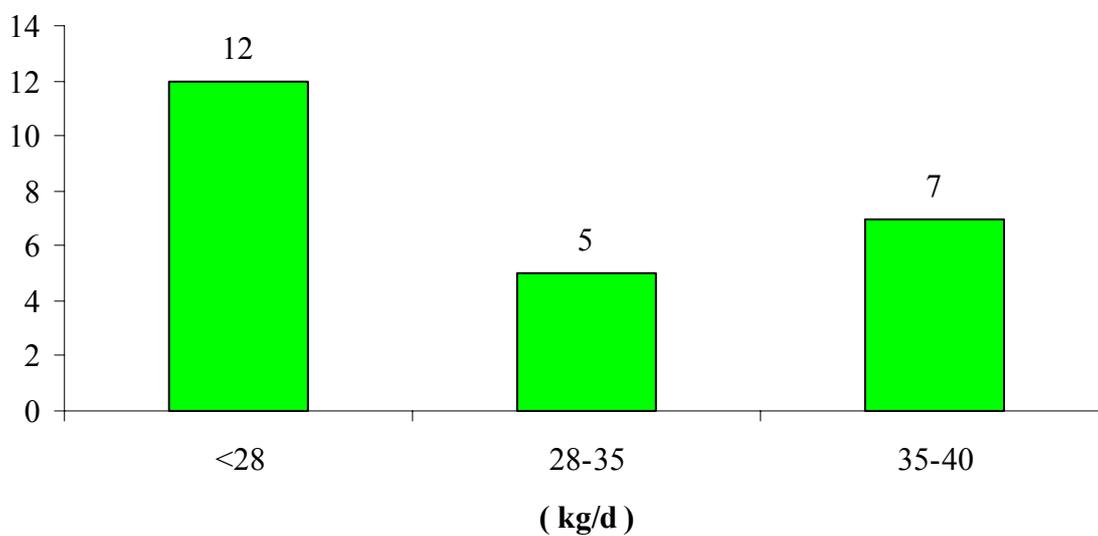


4.2 Fase sperimentale

4.2.1 Caratteristiche degli animali all'inizio della prova

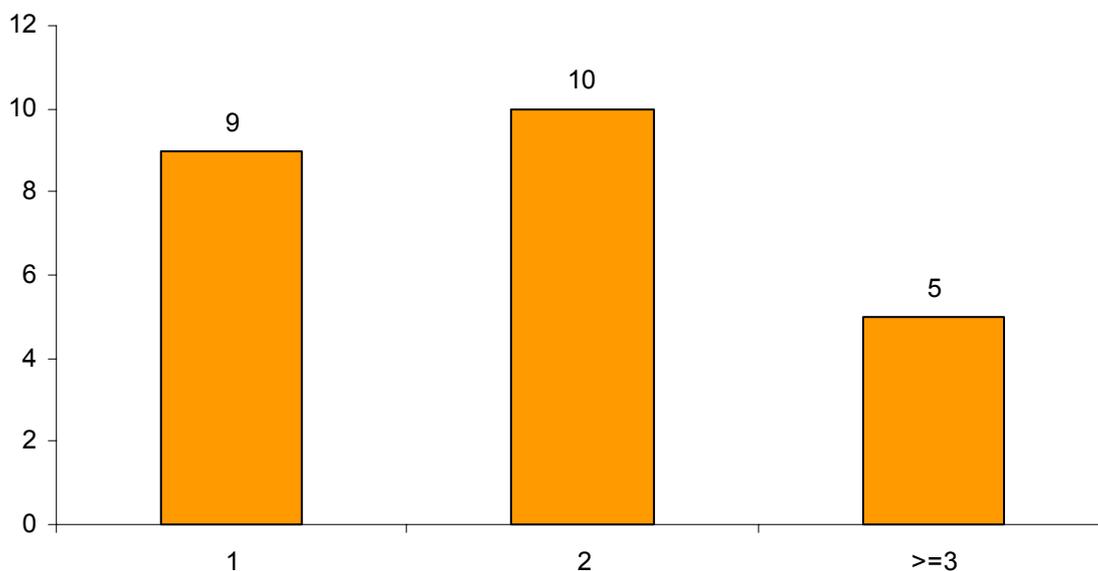
Le bovine in prova hanno evidenziato un livello produttivo medio pari a 29.1 ± 5.4 . Se suddividiamo l'intero gruppo in classi di produzione (*Grafico4.4*), si può notare come il gruppo più numeroso (il quale conta il 50 % dei soggetti) sia composto da animali con produzioni al di sotto dei 28 kg di latte al giorno. Volgendo invece lo sguardo verso i gruppi con produzioni comprese tra i 28 ed i 40 kg/d, notiamo una bassa numerosità entro gruppo ma, nel complesso, la somma dei soggetti all'interno di questi due gruppi forma il restante 50 % dei soggetti in tesi. Questa disomogeneità potrebbe essere attribuibile ad un calo della produzione media da parte degli animali più sensibili, visto il concomitante periodo di caldo intenso avutosi in precedenza ed all'inizio della prova stessa.

Grafico 4.4 – Classi di produzione di latte all’inizio della prova



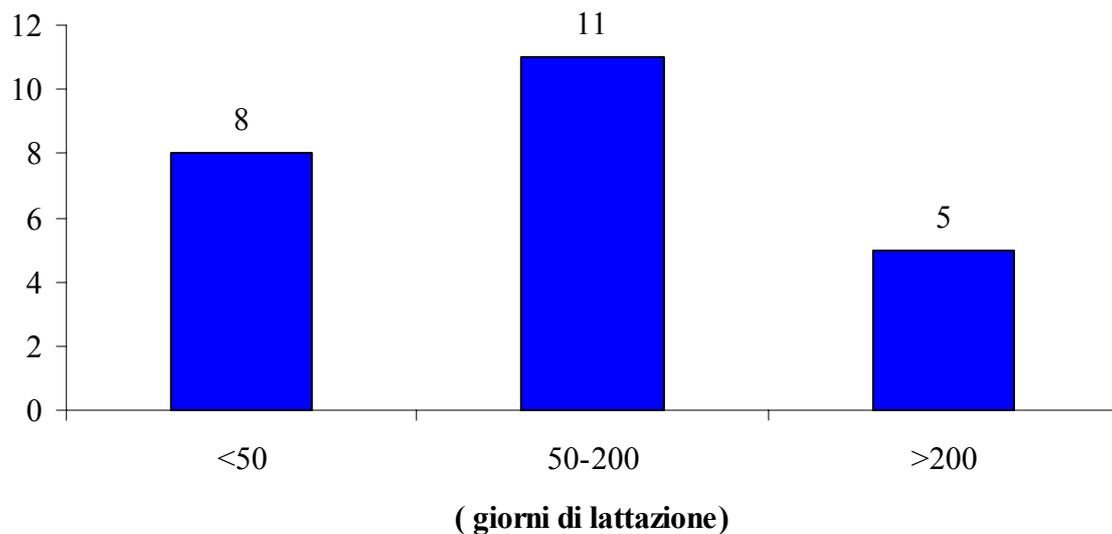
Dall’analisi del *Grafico 4.5*, si nota che gli animali utilizzati nella prova, avevano ordini di parto differenti, resta comunque valido il dato medio (2 ± 1.1) il quale evidenzia come il gruppo più numeroso sia composto da bovine in seconda lattazione.

Grafico 4.5 – Ordine di parto



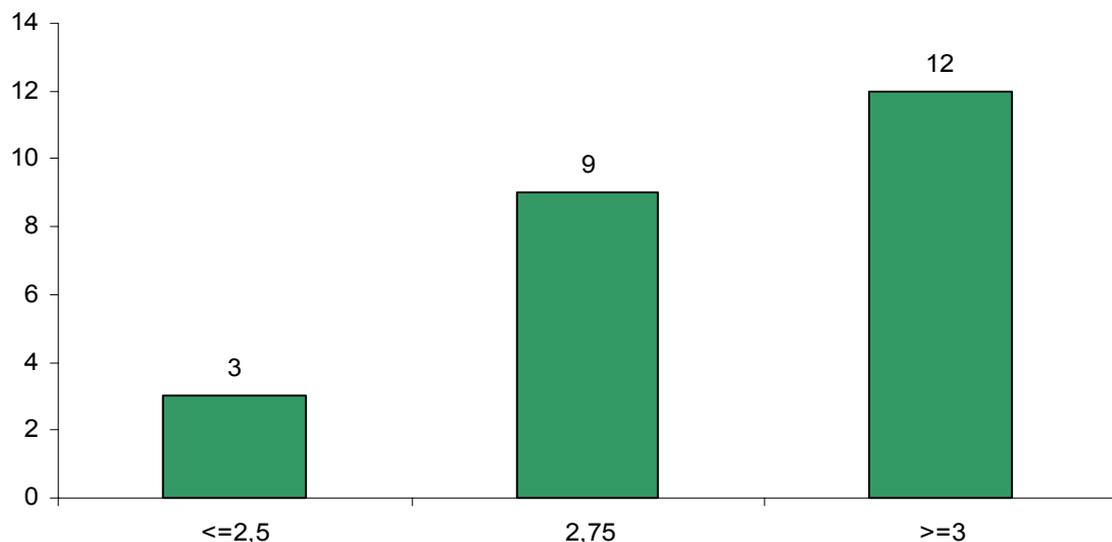
Gli animali utilizzati in questa prova erano caratterizzati da differenti stadi di lattazione (DIM, Days In Mylk). Analizzando il *Grafico 4.6*, notiamo che il maggior raggruppamento di animali (45,8% del totale), si evidenzia nelle bovine attorno al picco di lattazione confermando il valore medio dell'intero gruppo (129 ± 86.7). Le vacche fresche, (meno di 50 giorni di lattazione), rappresentano 1/3 del gruppo

Grafico 4.6 – Giorni di lattazione (DIM) al 24/07/2006



Dall'analisi dei dati di condizione corporea (*Grafico 4.7*) del gruppo in tesi, possiamo osservare che il gruppo più cospicuo (87.5% dei soggetti) si trova nel range della media del gruppo (2.9 ± 0.3).

Grafico 4.7 – Body Condition Score



4.2.2 Caratteristiche chimiche e nutrizionali degli alimenti impiegati

Nelle *tabelle 4.7 e 4.8*, è indicata la composizione chimica e il valore energetico degli alimenti impiegati nella prova sia come componenti dell'unifeed che inseriti negli autoalimentatori come supplemento per le bovine con produzioni di latte superiori ai 28 kg/d.

Tabella 4.7 - Composizione chimica (analisi tipo) degli alimenti utilizzati

ALIMENTI		SS (%)	PG (%)	EE (%)	CEN (%)	FG (%)	EI (%)
Fieno Prato Stabile	m *	90.13	7.51	1.39	8.55	34.49	48.05
Medica Disidratata	m *	88.81	28.18	3.22	12.58	21.79	34.23
Mangime Agripolis	1	89.08	23.37	2.67	12.42	7.82	53.71
Mangime Agripolis	2	88.87	24.34	3.09	12.76	7.84	51.96
Mangime Agripolis	m *	88.98	23.86	2.88	12.59	7.83	52.84
Mangime Agripolis	a **	89.11	23.46	2.48	11.89	7.47	54.70
Polpe di Bietola	1	90.75	8.48	0.45	5.31	21.68	64.09
Soia farina estrazione	1	88.66	47.61	2.23	7.04	5.16	37.96
Soia farina estrazione	2	88.56	50.44	1.69	7.02	5.14	35.70
Soia farina estrazione	m *	88.61	49.03	1.96	7.03	5.15	36.83
Soia farina estrazione	a **	88.80	48.44	1.73	7.05	5.96	36.82
Mais farina	1	87.98	8.68	3.54	1.55	1.26	84.96
Mais farina	2	88.13	8.78	3.46	1.63	1.11	85.02
Mais farina	m *	88.05	8.73	3.50	1.59	1.19	84.99
Mais farina	a **	88.09	8.39	3.61	1.30	1.20	85.50
Orzo	a **	89.44	9.34	1.78	2.85	4.03	82.00
Silomais	1	30.24	7.79	3.78	4.26	26.62	57.56
Hidropalm	1	99.93		100	0.07		
Soia integrale tostata	1	92.53	39.66	22.36	5.18	5.63	27.16
Maxifat	1	96		84.5	15.5		

* : valori medi dei prelievi effettuati

** : alimento in autoalimentatore

1 : 1° prelievo

2 : 2° prelievo

Tabella 4.8 - Analisi della frazioni fibrose (Weende), contenuto di amido e UFL

ALIMENTI		NDF (%)	CC (%)	ADF (%)	EMI (%)	ADL (%)	AIA (%)	amido (%)	UFL
Fieno Prato Stabile	m *	62,79	37,21	38,40	24,40	4,57	0,18	3,33	0,67
Medica Disidratata	m *	36,19	63,81	24,73	11,46	5,93	0,97	0,79	0,76
Mangime Agripolis	1	26,43	73,57	10,53	15,90	1,29	0,36	20,99	1,18
Mangime Agripolis	2	23,87	76,13	9,16	14,71	0,82	0,12	20,82	1,18
Mangime Agripolis	m *	25,15	74,85	9,85	15,30	1,06	0,24	20,91	1,18
Mangime Agripolis	a **	24,70	75,30	9,62	15,09	1,02	0,20	21,21	1,18
Polpe di Bietola	1	46,14	53,86	26,74	19,40	1,99	0,42	0,33	1,01
Soia farina estrazione	1	12,53	87,47	7,15	5,38	0,00	0,00	1,24	1,14
Soia farina estrazione	2	12,15	87,85	6,68	5,47	0,00	0,00	1,13	1,14
Soia farina estrazione	m *	12,34	87,66	6,92	5,42	0,00	0,00	1,19	1,14
Soia farina estrazione	a **	13,25	86,75	7,35	5,90	0,00	0,00	1,35	1,14
Mais farina	1	10,51	89,49	1,87	8,64	0,00	0,00	73,09	1,27
Mais farina	2	10,96	89,04	2,06	8,90	0,00	0,00	72,62	1,27
Mais farina	m *	10,73	89,27	1,96	8,77	0,00	0,00	72,86	1,27
Mais farina	a **	10,32	89,68	1,72	8,60	0,00	0,00	73,33	1,27
Orzo	a **	20,35	79,65	4,49	15,86	0,00	0,00	64,63	1,14
Silomais	1	52,07	47,93	29,46	22,61	2,00	0,10	23,46	0,88
Hidropalm									2,61
Soia integrale tostata		12,53	87,47	6,19	6,34	0,04	0,00	0,70	1,34
Maxifat									2,21

* : valori medi dei prelievi effettuati

** : alimento in autoalimentatore

1 : 1° prelievo

2 : 2° prelievo

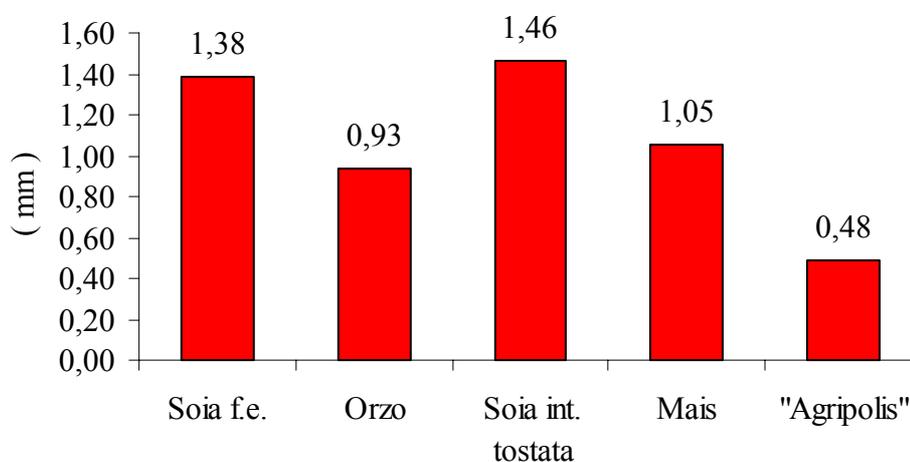
4.2.3 Caratteristiche fisiche dei concentrati utilizzati

Nella *tabella 4.9* è riportata la distribuzione granulometrica degli alimenti utilizzati e nel *grafico 4.8* il diametro geometrico medio. Si può osservare che l'alimento con le particelle alimentari di dimensioni più ridotte è il mangime commerciale Agripolis (dgm=0.48 mm) (usato come componente dell'unifeed nella forma di farina) mentre gli ingredienti con particelle più grandi sono la soia integrale tostata (dgm=1.46 mm), che ha subito una grossolana frantumazione in mulino (come riportato in materiale e metodi) e la farina di estrazione di soia (dgm=1.38) che si trova nella forma fisica di scaglie.

Tabella 4.9 - distribuzione granulometrica delle particelle delle materie prime

	Ø setacci (mm)								
	>4.75	>2.36	>1.18	>0.60	>0.30	>0.15	>0.075	>0.038	fondo
Soia f.e.	0,27	15,91	53,29	19,02	9,29	2,07	0,14	0,00	0,00
Orzo	0,09	6,48	35,61	29,25	24,20	3,68	0,69	0,00	0,00
Soia int. tostata	1,82	29,63	33,37	19,36	13,74	1,83	0,25	0,00	0,00
Mais	0,02	3,67	46,70	31,10	16,17	2,01	0,31	0,00	0,00
"Agropolis"	0,37	2,42	12,41	25,44	31,27	18,57	7,91	1,62	0,00

Grafico 4.8 – Diametro geometrico medio delle materie prime



4.2.4 Caratteristiche chimiche delle diete

Come descritto in materiale e metodi, le diete sono state formulate considerando la produzione di latte di ciascuna bovina. In questo modo sono state formulate 4 diverse tipologie di dieta a seconda del livello produttivo (<28, 28-35, 35-40, >40 kg/d). A queste diete di controllo (CTR) sono stati aggiunti l'idrogenato (HIDRO), il sapone (MAXI) e la soia integrale tostata (SOIA). Le formulazioni risultanti sono riportate nelle tabelle di seguito riportate (Tabelle 4.10, 4.11, 4.12 e 4.13).

Tabella 4.10 - Composizione chimica (% di s.s.) delle diete per vacche con produzioni di latte inferiori a 28 kg/d

tesi	SS (kg)	SS	PG	EE	CEN	FG	EI	NDF	CC	ADF	EMI	ADL	AIA	amido	UFL
ctr	20,32	46,39	15,64	2,67	6,94	21,39	53,37	42,24	57,76	24,28	17,97	2,52	0,23	16,76	0,92
Hydro	20,65	47,13	15,39	4,20	6,83	21,05	52,53	41,58	56,85	23,90	17,68	2,48	0,23	16,50	0,94
Soia integrale tostata	21,77	49,70	17,24	3,98	6,82	20,34	51,62	40,27	59,73	23,07	17,19	2,35	0,21	15,69	0,95
Maxifat	20,70	47,27	15,35	4,19	7,10	20,99	52,38	41,46	56,68	23,83	17,63	2,47	0,22	16,45	0,94

Tabella 4.11 - Composizione chimica (% di s.s.) delle diete per vacche con produzioni di latte comprese tra 28 e 35 kg/d

tesi	SS (kg)	SS	PG	EE	CEN	FG	EI	NDF	CC	ADF	EMI	ADL	AIA	amido	UFL
ctr	22,45	48,6	16,38	2,64	6,81	19,81	54,36	39,86	60,14	22,52	17,33	2,299	0,21	18,87	0,94
Hydro	22,78	49,3	16,15	4,02	6,72	19,52	53,59	39,29	59,28	22,2	17,09	2,267	0,21	18,60	0,97
Soia integrale tostata	23,90	51,74	17,79	3,83	6,71	18,95	52,71	38,2	61,8	21,53	16,67	2,16	0,2	17,73	0,97
Maxifat	22,84	49,43	16,11	4,01	6,96	19,47	53,45	39,19	59,13	22,15	17,04	2,261	0,21	18,55	0,96

Tabella 4.12 - Composizione chimica (% di s.s.) delle diete per vacche con produzioni di latte comprese tra 35 e 40 kg/d

tesi	SS (kg)	SS	PG	EE	CEN	FG	EI	NDF	CC	ADF	EMI	ADL	AIA	amido	UFL
ctr	23,34	49,45	16,71	2,63	6,8	19,24	54,63	38,97	61,03	21,9	17,07	2,224	0,21	19,49	0,95
Hydro	23,67	50,14	16,48	3,97	6,7	18,97	53,88	38,44	60,19	21,6	16,84	2,193	0,2	19,22	0,97
Soia integrale tostata	24,79	52,52	18,05	3,78	6,7	18,44	53,02	37,42	62,58	20,98	16,44	2,094	0,19	18,39	0,97
Maxifat	23,73	50,27	16,44	3,96	6,94	18,92	53,74	38,34	60,04	21,54	16,8	2,188	0,2	19,17	0,97

Tabella 4.13 - Composizione chimica (% di s.s.) delle diete per vacche con produzioni di latte superiori a 40 kg/d.

tesi	SS (kg)	SS	PG	EE	CEN	FG	EI	NDF	CC	ADF	EMI	ADL	AIA	amido	UFL
ctr	24,94	50,89	17,01	2,63	6,64	18,24	55,48	37,4	62,6	20,79	16,61	2,089	0,19	21,19	0,97
Hydro	25,26	51,55	16,79	3,88	6,55	18,01	54,76	36,92	61,79	20,53	16,39	2,062	0,19	20,91	0,99
Soia integrale tostata	26,39	53,85	18,25	3,72	6,56	17,55	53,92	36,03	63,97	19,99	16,04	1,974	0,18	20,06	0,99
Maxifat	25,32	51,67	16,75	3,87	6,78	17,96	54,64	36,83	61,65	20,48	16,36	2,057	0,19	20,86	0,99

Come si può osservare nelle tabelle il livello proteico delle diete, è risultato più elevato nel gruppo sperimentale SOIA (in media 17.83% ss rispetto a 16.44, 16.20, 16.16 rispettivamente per CTR, HIDRO e MAXI). Il livello energetico della dieta espresso in UFL/kg s.s., è risultato omogeneo per tutte le diete.

Il livello di proteine della tesi SOIA è risultato superiore rispetto agli standard raccomandati (NRC, 2001 – INRA 1998) di circa un punto percentuale. Il livello medio di lipidi grezzi della dieta è risultato ovviamente più basso nella tesi di controllo rispetto a quelle che prevedevano l'aggiunta di integratori o soia (2.64 vs. 3.83, 4.01, 4.02% s.s., rispettivamente per CTR, SOIA, HIDRO, MAXI). Il tenore di NDF della dieta è risultato tendenzialmente più alto rispetto agli standard di riferimento (soprattutto quelli americani dell'NRC) con valori medi compresi tra 38.6% s.s. (SOIA) e 40.2% s.s. (CTR). Il tenore dei carboidrati non strutturali (NSC), è risultato mediamente pari a 34.1 (33.7, 33.9, 34.1, 34.5 % s.s., rispettivamente per SOIA, MAXI, HIDRO e CTR), trovandosi in linea rispetto 34% dato standard per i fabbisogni raccomandati degli NSC. Infine il contenuto energetico delle diete è risultato pari a 21.55, 22.39, 22.39 e 23.49 UFL, rispettivamente per CTR, HIDRO, MAXI e SOIA.

4.2.5 Caratteristiche fisiche dell'unifeed

Come riportato in materiale e metodi, due campioni di unifeed prelevati rispettivamente ad inizio e fine prova, sono stati sottoposti a determinazione della distribuzione granulometria utilizzando il metodo proposto dalla Pennsylvania State University (PSU). Come si può vedere in *tabella 4.14* la frazione più grossolana è stata pari a 22.6 e 35% nei due campioni mentre quella relativa alle particelle più piccole pari a 45.0 e 42.4%.

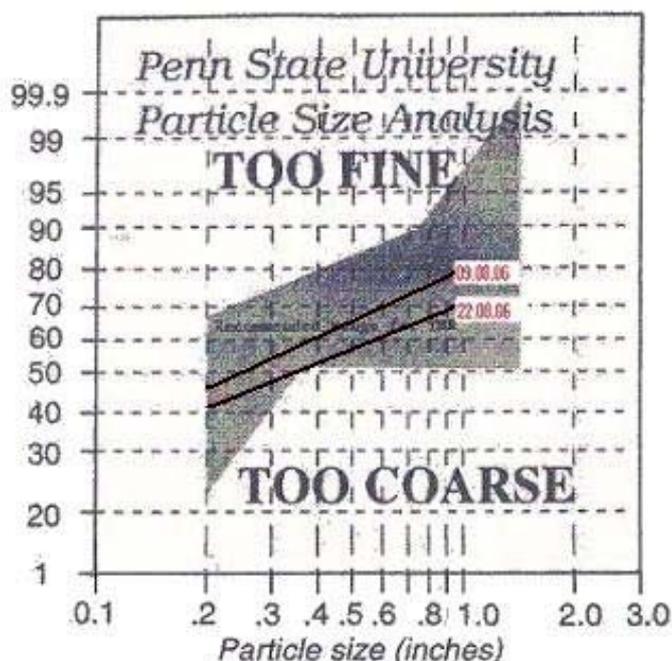
Tabella 4.14 – Ripartizione delle differenti frazioni fibrose nel setacciatore PPS

Prelievo	SETACCIO (%)		
	19 mm	8 mm	fondo
09/08/2006	22.6	32.3	45.0
22/08/2006	35.0	22.5	42.4

Questi dati, inseriti nel modello di valutazione della Pennsylvania State University (*Grafico 4.9*) indicano come in entrambi i campioni la distribuzione della granulometria rientri nell'area considerata ottimale per un'adeguata alimentazione delle vacche da latte.

Nel campione prelevato e fine prova tuttavia le particelle risultano al limite dell'area essendo tendenzialmente di dimensioni troppo elevate rispetto a quanto consigliato. La somministrazione di diete troppo grossolane può comportare una riduzione dell'ingestione di sostanza secca e una maggior tendenza alla selezione degli ingredienti da parte delle bovine (Kononoff et al., PSU - 2003)

Grafico 4.9 – Analisi della distribuzione delle particelle dell'unifeed



4.2.6 Ingestione alimentare delle bovine in prova

Sulla base delle dosi di unifeed distribuite e dei residui alimentari lasciati in mangiatoia, è stato possibile calcolare un dato, pur indicativo, dell'ingestione media di unifeed da parte degli animali in prova. Si ricorda che tale razione è stato formulata per soddisfare i fabbisogni nutritivi di vacca con una produzione di latte fino a 28 kg/d e che per produzioni superiori gli animali potevano accedere agli autoalimentatori nei quali potevano assumere una supplementazione della dieta. I valori riportati, si riferiscono esclusivamente all'ingestione media calcolata per differenza, pesando i residui in mangiatoia, escludendo quindi l'aggiunta dei diversi supplementi.

L'ingestione di sostanza secca con l'unifeed (*Grafico 4.10 e Grafico 4.10 bis*) è risultata pari mediamente a 19,21; per la tesi MAXI è stata rilevata una ingestione tendenzialmente superiore (+ 0,5 kg s.s.) rispetto alle altre tesi (19.7 vs. 19.2, 19.0 18.9 kg/d di sostanza secca rispettivamente per CTR, HIDRO e SOIA).

Grafico 4.10 – Ingestione media giornaliera di sostanza secca

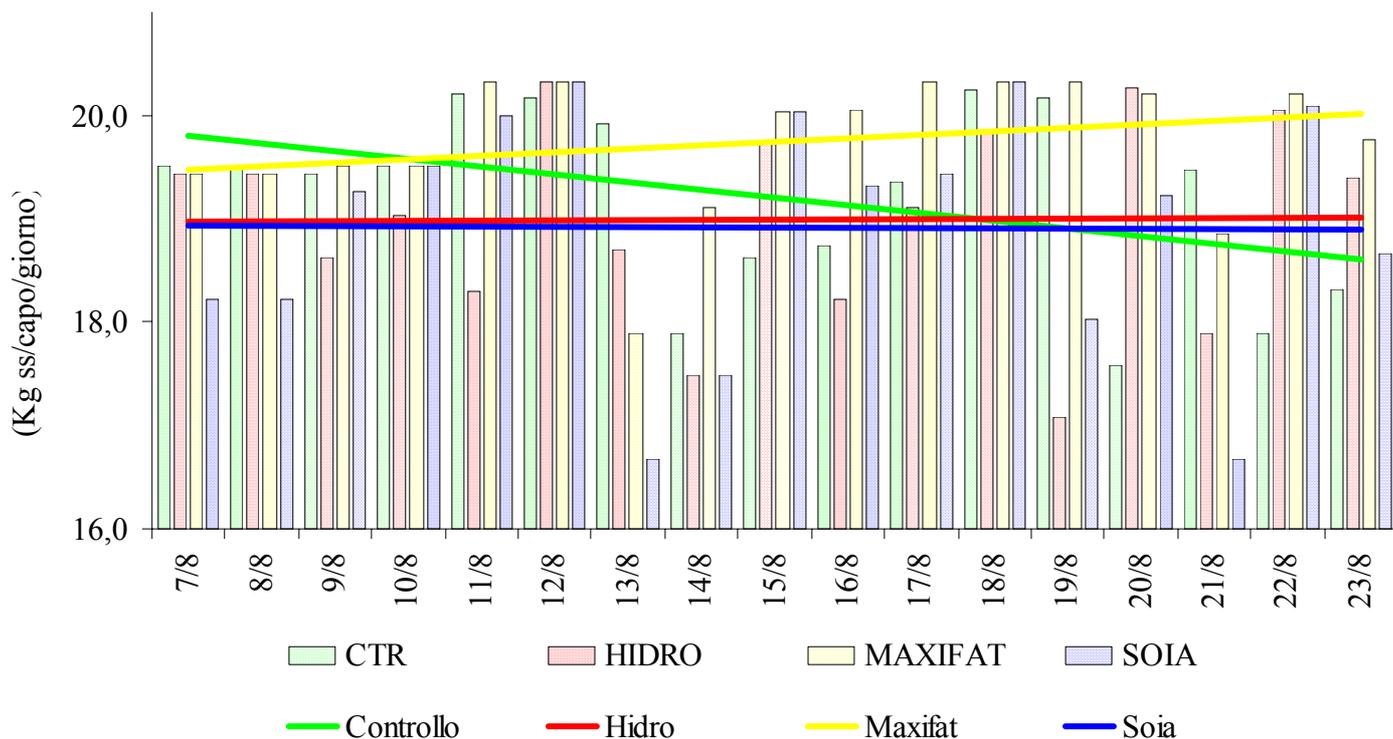
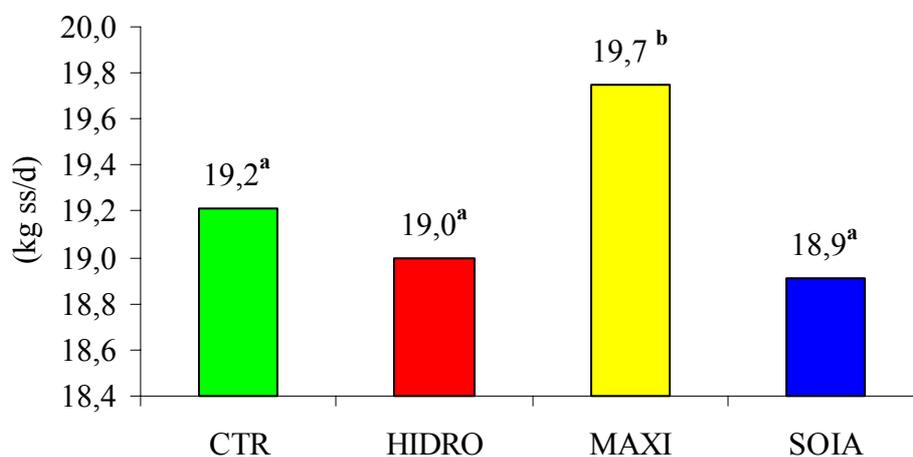


Grafico 4.10 bis – Medie least squares dell'ingestione di sostanza secca (abc: P<0,05)



Relativamente al consumo degli integratori lipidici e della soia, somministrati con la tecnica del top dressing, va considerato che le bovine hanno manifestato uno scarso apprezzamento per il MAXIFAT, rivolgendosi esclusivamente verso l'unifeed e evitando accuratamente l'assunzione di questo supplemento.

Questo comportamento, evidenziato nella *Foto 4.1*, è riconducibile ad una scarsa appetibilità dell'integratore, soprattutto in termini di caratteristiche olfattive, in quanto risultava caratterizzato da un intenso odore di sapone da parte degli operatori.

Foto 4.1 – Comportamento alimentare bovine tesi MAXIFAT



Pur non essendo stato possibile valutare in modo adeguato la quantità di MAXIFAT effettivamente ingerita, si può affermare che in questa tesi la composizione chimica dell'ingerito sia stata notevolmente diversa rispetto a quanto formulato nella dieta teorica.

4.2.7 Produzione di latte

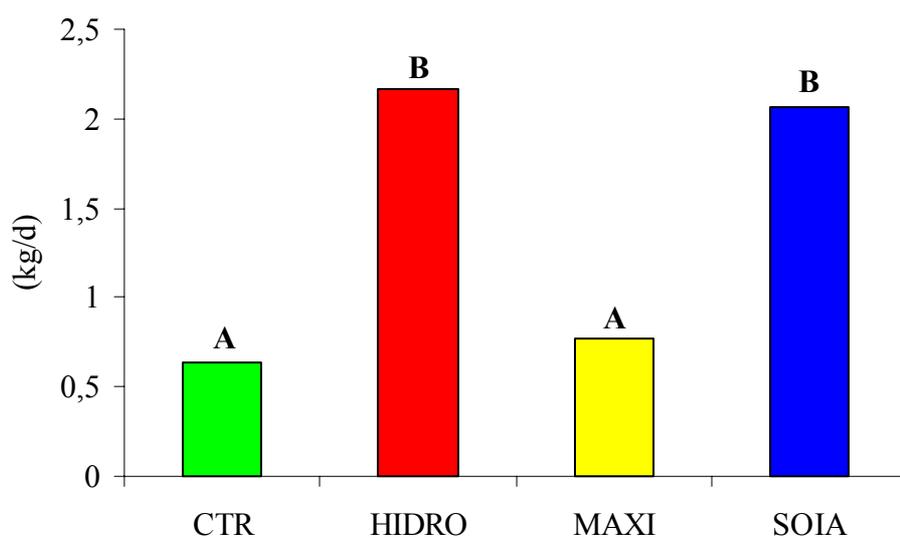
La produzione di latte è stata calcolata come differenza tra le produzioni ottenute durante la prova sperimentale di tre settimane e quelle relative alla media del periodo della fase di transizione (15giorni). Queste variazioni sono risultate più contenute nelle tesi CTR e MAXI (+0.64 e +0.77 kg/d) e significativamente ($P > 0.001$) superiori per le tesi SOIA e HIDRO (+2.07 e +2.17 kg/d) (Tabella 4.15 e Grafico 4.11).

Tabella 4.15 - Analisi della varianza della produzione di latte

	G.L.	Produzione (kg/d)	P
Tesi	3	59,54	***
Animale	20	46,93	***
Errore	340	4,03	

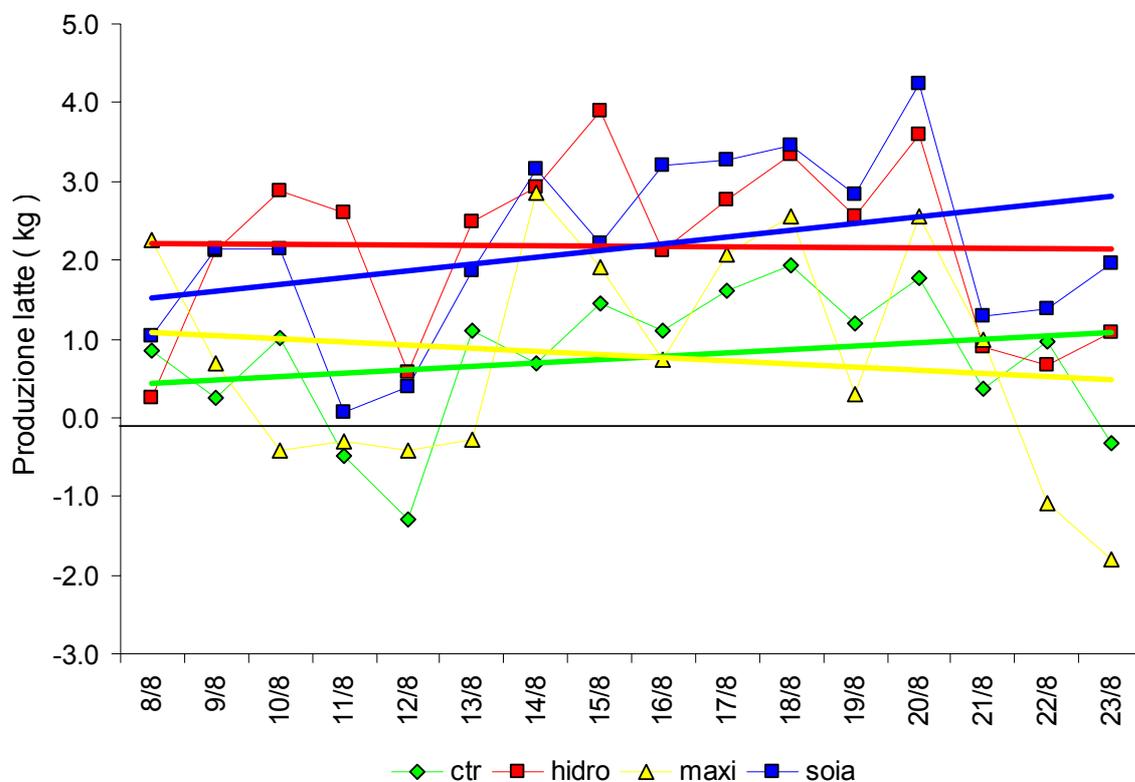
*** = $P < 0,001$

Grafico 4.11 – Medie least squares della produzione di latte (ABC: $P < 0,001$)



Nel *Grafico4.12* è inoltre possibile verificare l'andamento delle produzioni di latte (esprese sempre come differenza) in tutto l'arco della prova. Si può osservare come le differenze produttive siano nettamente superiori nelle tesi HIDRO e SOIA rispetto al CTR e MAXI. Analizzando l'andamento delle produzioni della tesi MAXI, notiamo un tendenziale calo progressivo di circa 0,5 l di latte rispetto alle produzioni ante prova. Nella tesi soggetta ad integrazione di soia, invece, si osserva un considerevole aumento della produzione nel tempo, che tendenzialmente si attesta a 1,5 l di latte in più.

Grafico 4.12 – Andamento medio delle produzioni di latte



I risultati relativi alla produzione di latte delle bovine appartenenti alle 4 tesi sono in parziale contraddizione con i dati relativi all'ingestione di sostanza secca (unifed) sopra riportati nei quali emergeva un superiore consumo alimentare da parte della tesi MAXIFAT. Una possibile ipotesi di questo andamento è legata alla probabile minor concentrazione energetica della dieta ingerita rispetto a quella teorica, dovuta alla scarsa ingestione dell'integratore lipidico come sopra descritto.

4.2.8 Qualità del latte

Riguardo alle caratteristiche qualitative del grasso (*Tabella 4.16* e *Grafico 4.13*), va sottolineato che il tenore di grasso è risultato differente in modo significativo tra le tesi sperimentali anche se con un livello inferiore rispetto agli altri tenori. Le differenze fra le medie non sono elevate (da un valore minimo di 3.57 della tesi CTR ad un massimo di 3.90% di MAXI), indicando una elevata variabilità individuale di questo parametro (varianza dell'effetto animale entro tesi = 0,52; $P < 0.01$).

Tabella 4.16 - Analisi della varianza dei parametri qualitativi del latte

	unità di misura	Tesi	Animale	Errore
G.L.		3	20	46
grasso	%	0,37 °	0,52**	0,19
proteine	%	0,03 *	0,17 ***	0,0099
caseina	%	0,017 *	0,09 ***	0,006
ind. Caseina	%	28,73 ***	10,3 ***	2,01
lattosio	%	0,08 ***	0,07 ***	0,007
RSM "	%	0,08 *	0,24 ***	0,018
cellule somatiche	num./ml	1026870,98 ***	990216,15 ***	95113,71
cellule somatiche	log ₁₀ (.000)	1,018 ***	1,54 ***	0,061
cellule somatiche	log ₂ (.000)+3	11,23 ***	17,02 ***	0,67
r	min	98,16	63,76	50,32
K20	min	19,49 °	5,44	8,47
a30	mm	9,93	445,64 ***	115,07
nldg ""	tipo	6,07	6,45 *	3,56
°SH	°SH/50	0,26 **	0,23 ***	0,04
pH		0,013 *	0,007 *	0,004

" = Residuo secco magro

"" = tipo lattodinamografico (punteggio numerico): A=6; B=5; C=4; D=3; E=2; F=1

° : $P < 0,10$

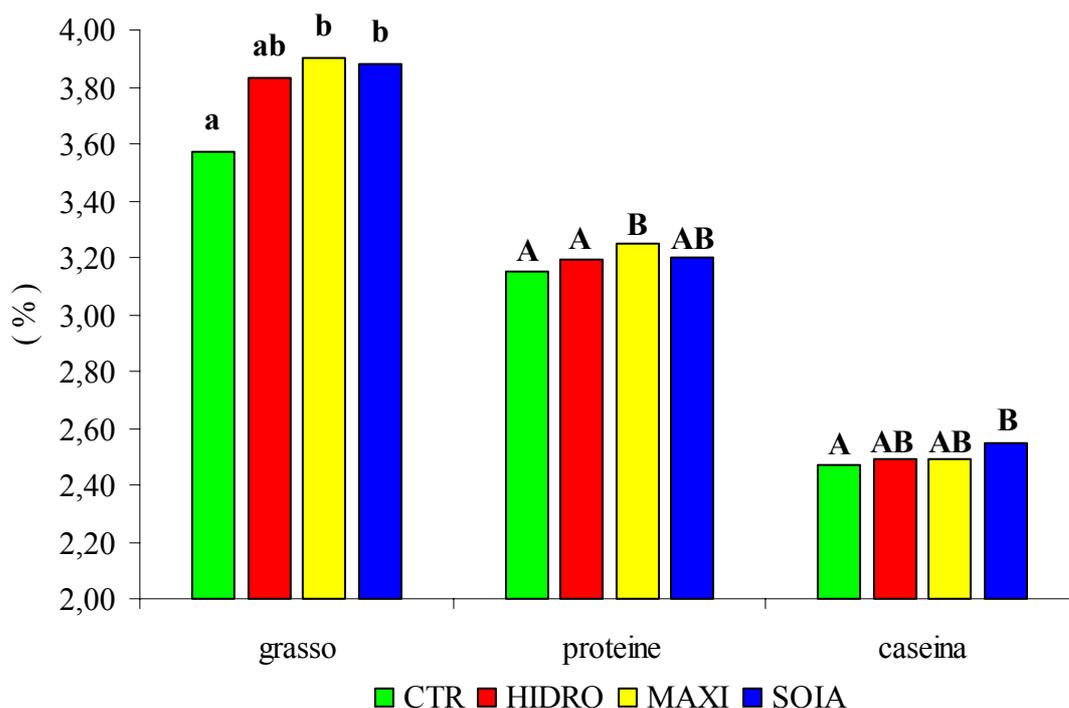
* : $P < 0,05$

** : $P < 0,01$

*** : $P < 0,001$

Nell'elaborazione statistica dei dati, i valori di valutazione del tipo lattodinamografico, sono stati convertiti con un punteggio numerico come specificato in *tabella 4.16*.

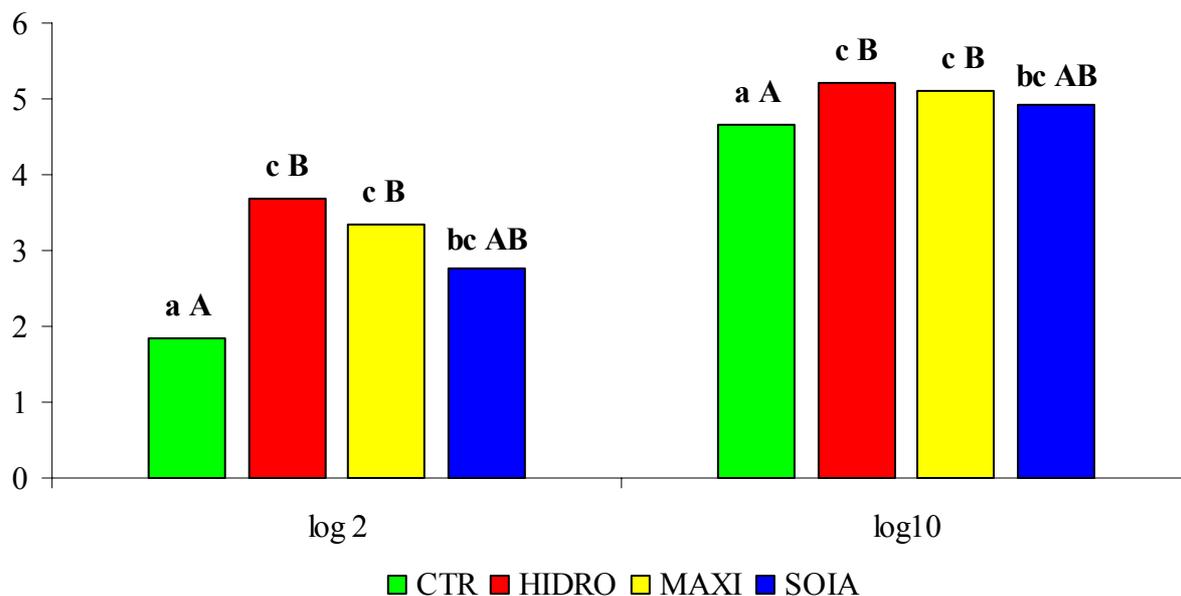
Grafico 4.13 – Medie least squares del grasso, proteine e caseina del latte (abc:P<0,05; ABC: P<0,001)



Al contrario il tenore di proteine del latte è risultato significativamente diverso ($P<0.05$) nelle 4 tesi sperimentali con valori più bassi per la tesi CTR e HIDRO (3.15 e 3.19%), valori intermedi per la tesi SOIA (3.20) e più elevati per la tesi MAXIFAT. Valutando la percentuale di caseina, l'andamento è abbastanza sovrapponibile a quello della proteina ma in questo caso il CTR ha valori significativamente più bassi (2.47%), la SOIA valori più alti (2.55%) mentre le altre due tesi sperimentali si trovano in una situazione intermedia.

Il contenuto di cellule somatiche (espresso come $3 + \log$ aritmo in base due del valore di cellule diviso per mille) è risultato più alto nelle due tesi alle quali sono stati aggiunti i due integratori lipidici (3.35 e 3.69 rispettivamente per MAXI e HIDRO) e più basso nella tesi SOIA e CTR (2.76 e 1.84 rispettivamente).

Grafico 4.14 – Medie least squares delle cellule somatiche (abc:P<0,05; ABC:P<0,001)



L'analisi lattodinamografica ha evidenziato una miglior attitudine casearia del latte prodotto dai soggetti appartenenti alla tesi HIDRO (tipo LDG = 4.27) rispetto a quello prodotto dagli animali delle tesi MAXI e SOIA (tipo LDG = 3.61 e 3.47 rispettivamente) e del controllo (tipo LDG = 2.83). Analizzando i singoli parametri l'unica differenza significativa riguarda il K20 (P<0.10), che rappresenta la velocità con cui procede la coagulazione del latte, risultato più alto (e quindi sfavorevole per la tesi MAXI (5.13 min) rispetto a HIDRO e SOIA con valori intermedi (3.68 e 3.91 min rispettivamente) e, soprattutto, al controllo (2.54 min).

4.2.9 Profilo acidico del latte

I valori relativi all'analisi della varianza del profilo acidico del latte, sono indicati in tabella (tabella 4.17) e sono tutti riportati in percentuale sul grasso del latte. Analizzando i dati relativi al contenuto di acidi grassi saturi, insaturi, del contenuto dei coniugati dell'acido linoleico e dei rapporti tra le diverse frazioni lipidiche, si nota un elevato livello di significatività.

Tabella 4.17 - Analisi della varianza del profilo acidico del latte

	unità di misura	Tesi	Animale	Errore
G.L.		3	20	46
CLA ^a	%	0,11***	0,031***	0,05
SFA ^b	%	113,14***	10,78**	3,11
UFA ^c	%	107,00***	10,44**	3,08
MUFA ^d	%	75,15***	10,76***	2,46
PUFA ^e	%	12,73***	0,65***	0,13
SFA/UFA	%	1,59***	0,14**	0,042
MUFA/PUFA	%	23,52***	3,18***	0,36

^a = Coniugati dell'acido linoleico

^b = Acidi grassi saturi

^c = Acidi grassi insaturi

^d = Acidi grassi mono insaturi

^e = Acidi grassi poli insaturi

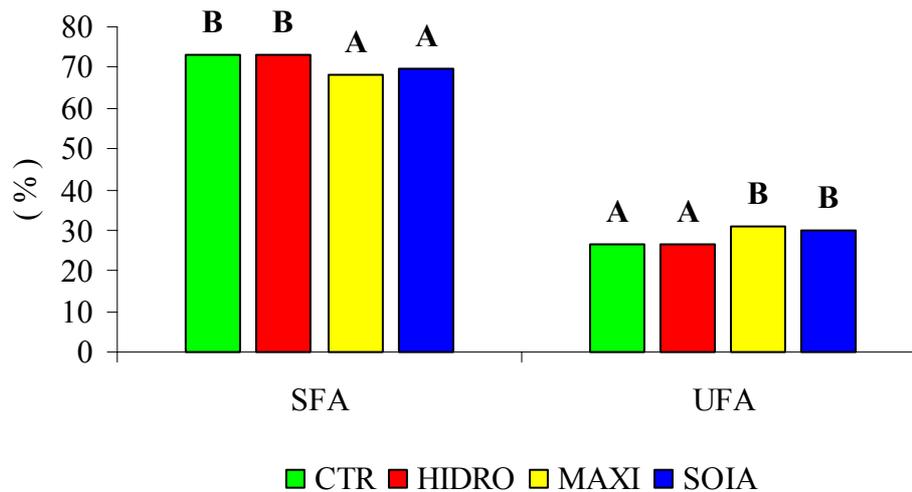
** : P < 0,01

*** : P < 0,001

L'andamento quantitativo medio degli acidi grassi saturi ed insaturi (Grafico 4.15.), mostra in maniera evidente come le tesi SOIA e MAXI, riportino dati superiori nel tenore di grassi della serie insatura (30.03 e 31.16% rispettivamente). Questi livelli superano mediamente del 15% rispetto alle tesi CTR e HIDRO, le quali evidenziano invece valori di grassi saturi più elevati (73.18 e 73.33% rispettivamente). Se analizziamo in modo specifico i due integratori lipidici utilizzati, notiamo che gli effetti sul profilo acidico del latte rispecchiano la loro composizione.

La tesi HIDRO denota una quota di acidi grassi saturi maggiore rispetto alla tesi MAXI, mentre vediamo che il supplemento lipidico saponificato, riporta valori maggiori di grassi della serie insatura, andamento paragonabile alle analisi qualitative effettuate nel periodo preliminare agli integratori lipidici testati.

Grafico 4.15 - Medie least squares dei valori di acidi grassi saturi ed insaturi nel latte (ABC:P<0,001).



Buoni livelli di significatività, si sono ottenuti dall'elaborazione statistica dei coniugati dell'acido linoleico (CLA). Svartati studi (Mc Guire *et al* 2000, Romeo 2001), indicano la positività di inserire questi composti nella dieta umana, grazie al loro effetto salutare. Nella tesi HIDRO si sono ottenuti i valori più bassi di CLA (0,35%) mentre i valori maggiori sono risultati nelle tesi SOIA, MAXI e CTR (0,5, 0,47 e 0,36 rispettivamente).

Grafico 4.16 - Medie least squares dei valori di CLA (ABC:P<0,001).

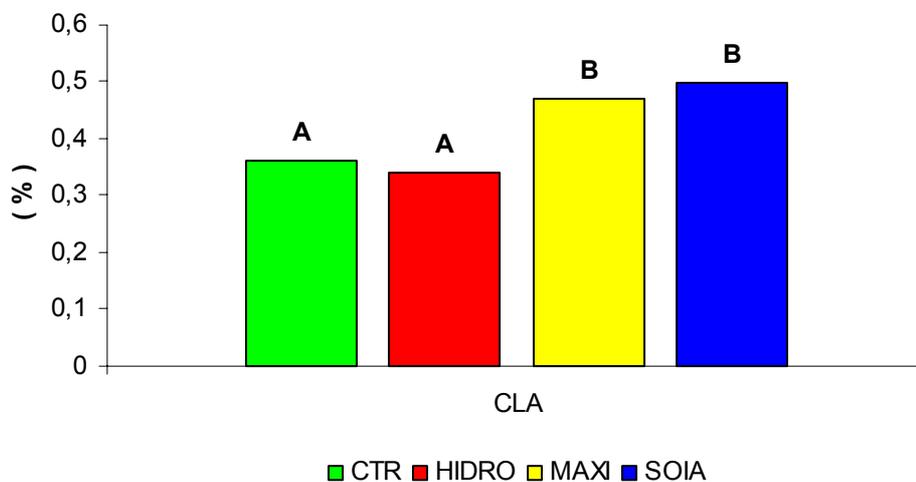
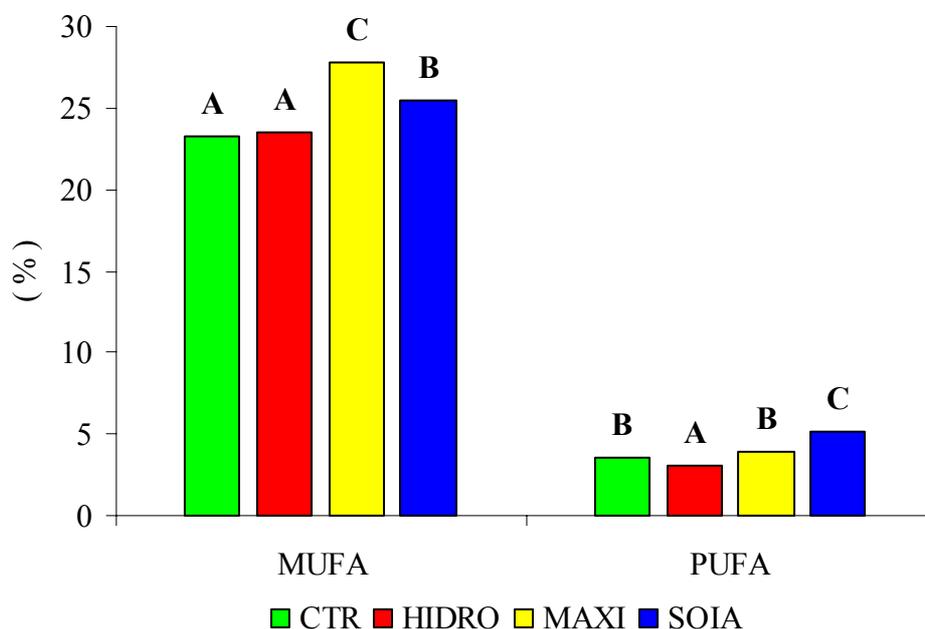


Grafico 4.17 - Medie least squares dei valori di acidi grassi monoinsaturi e polinsaturi nel latte (ABC:P<0,001).



Nel *grafico 4.17*, osservando in particolare l'incidenza dei valori di MUFA e PUFA relativi ai grassi del tipo insaturo vediamo risultati significativamente diversi ($P<0,001$). Nei MUFA le tesi MAXI e SOIA riportano i valori maggiori (27.75, 25.41% rispettivamente) se confrontate con le tesi HIDRO e CTR (23.27, 23.57% rispettivamente). Nei grassi polinsaturi, invece, risulta la tesi SOIA quella con i valori maggiori (5.11%), seguita dalla tesi MAXI (3.88%) e dalle altre due tesi CTR e HIDRO con valori minori (3.55 e 3.1% rispettivamente).

Analizzando i rapporti SFA/UFA e MUFA/PUFA (*Grafico 4.18*), vediamo come mediamente i valori di acidi grassi saturi (SFA/UFA) siano di 2/3 rispetto agli insaturi, valore in linea con quanto riportato da più autori (Dhiman et al 1999, Solomon et al 2000). I valori più bassi e quindi qualitativamente più favorevoli, nel rapporto SFA/UFA sono attribuibili alle tesi MAXI (2.23%) e SOIA (2.3%) verso le altre tesi da cui risultano valori più elevati (2.78, 2.8% CTR e HIDRO rispettivamente). Nel rapporto tra acidi grassi monoinsaturi e polinsaturi, il valore minore risulta nella tesi SOIA (5.05%); le altre tesi si pongono su livelli maggiori (6.6, 7.35, 7.67 per CTR, MAXI e HIDRO rispettivamente). Anche in questi due casi, il rapporto tra le varie frazioni lipidiche, premia dal punto di vista qualitativo le tesi SOIA e MAXI.

Grafico 4.18 - Medie least squares dei rapporti tra le varie frazioni lipidiche del latte (ABC:P<0,001).

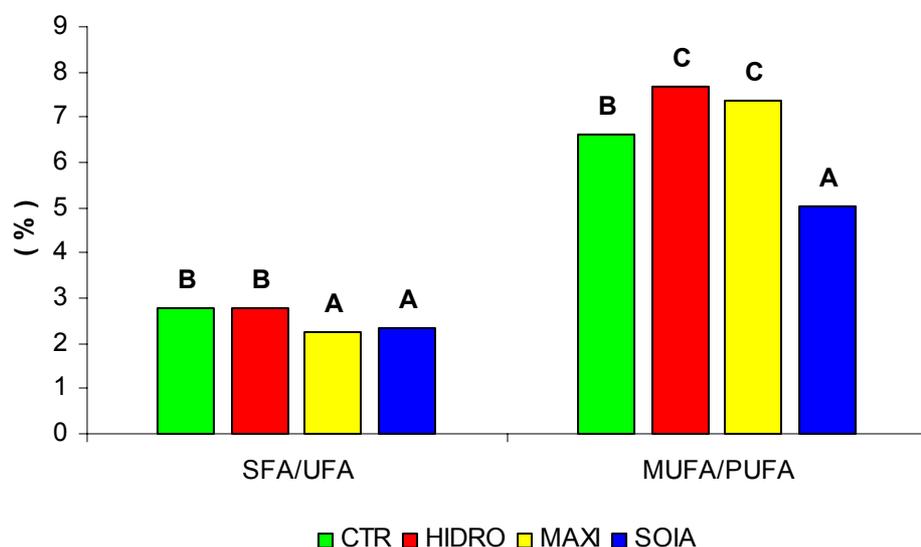


Tabella 4.18 - Analisi della varianza dei principali acidi grassi saturi, insaturi e acidi grassi della serie $\omega 3$ e $\omega 6$.

	unità di misura	Tesi	Animale	Errore
G.L.		3	20	46
C4 - Butirrico	%	0,26	0,91***	0,18
C6 - Capronico	%	0,69***	0,29***	0,025
C8 - caprilico	%	0,49***	0,09***	0,011
C10 - caprinico	%	2,31***	0,43***	0,088
C12 - laurico	%	2,78***	0,4**	0,12
C14 - miristico	%	11,45***	1,83***	0,39
C16 - palmitico	%	143,98***	14,31***	1,69
C18 - stearico	%	20,81***	5,75***	0,83
C18:1 - oleico	%	66,01***	9,50***	1,99
C18:2 $\omega 6$ - linoleico	%	6,61***	0,31***	0,06
C18:3 $\omega 3$ - α linolenico	%	0,15***	0,008**	0,12
C18:3 $\omega 6$ - γ linolenico	%	0,0005***	0,0002***	0,00002
C20:4 $\omega 6$ - arachidonico	%	0,004***	0,003***	0,0004
C20:5 $\omega 3$ - eicosapentanoico	%	0,0002***	0,00005**	0,00002

** : P < 0,01

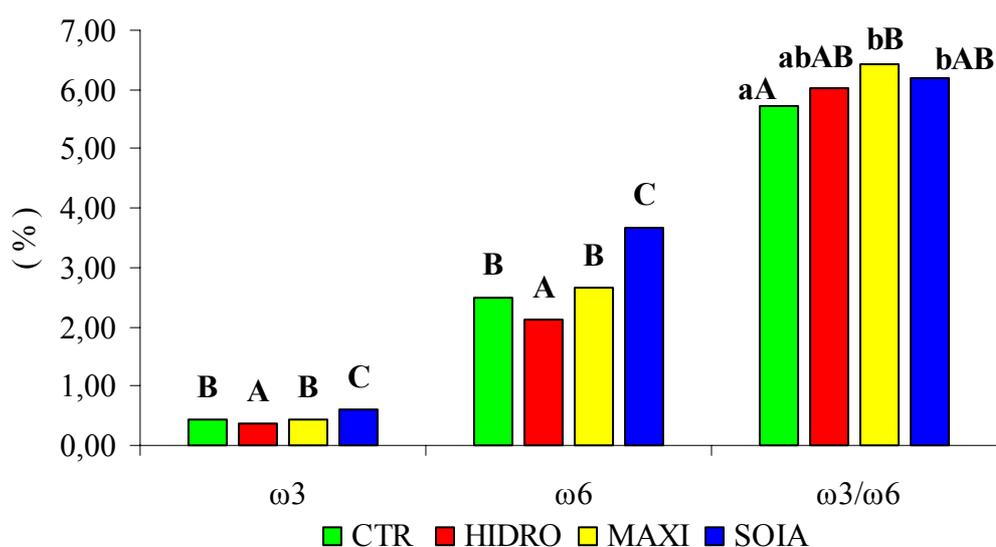
*** : P < 0,001

Esaminando l'analisi della varianza dei principali acidi grassi saturi ed insaturi (*Tabella 4.18*), comprendenti gli acidi grassi della serie $\omega 3$ e $\omega 6$, risulta evidente anche in questo caso l'elevato grado di significatività statistica ottenuto.

Dall'analisi dei valori medi di questi dati, poniamo una giusta attenzione agli acidi grassi della serie $\omega 3$ e $\omega 6$ in quanto, a livello dietetico, rivestono importanti effetti nella salute dell'uomo (Simopoulos, 2002). In modo più specifico, gli acidi grassi $\omega 3$ rivestono un ruolo più importante rispetto agli $\omega 6$ ed il rapporto tra questi ultimi e gli $\omega 3$ deve risultare compreso tra 5:10 e 10:10; resta comunque valido che minore è questo rapporto (elevata quota $\omega 3$) e migliore è il beneficio apportato da questi composti.

I valori di questi particolari acidi grassi si differenziano nelle diverse diete (*Grafico 4.19*) in quanto nella tesi SOIA risultano le maggiori quantità di $\omega 3$ e $\omega 6$ (0.59 e 3.66% rispettivamente). Parlando di $\omega 3$ le altre tesi riportano valori minori partendo da CTR (0.44%) seguita da MAXI e HIDRO (0.42 e 0.35 rispettivamente). Le quantità di $\omega 6$ invece, si attestano sui valori di 2.67, 2.48 e 2.13% rispettivamente per MAXI, CTR e HIDRO. Percentualmente la tesi di controllo (CTR) presenta rapporti più bassi tra $\omega 3$ e $\omega 6$ con valori pari a 5.7%, nelle altre tesi, in ordine crescente troviamo valori di 6.02, 6.19 e 6.42 rispettivamente per HIDRO, SOIA e MAXI.

Grafico 4.19 - Medie least squares delle percentuali di $\omega 3$ e $\omega 6$ nel latte (abc:P<0,05; ABC:P<0,001).



4.2.10 Parametri ematici

Per quanto concerne il profilo metabolico va evidenziato (*Tabella 4.19*) che solo l'urea ematica e l'enzima CK (creatin kinasi) hanno mostrato differenze fra le tesi significative all'analisi statistica ($P < 0.10$).

Tabella 4.19 – Analisi della varianza dei parametri ematici

	unità di misura	Tesi	Errore
G.L.		3	20
proteine	g/l	36,11	30,55
albumine	g/l	7,16	10,71
globuline	g/l	38,27	68,45
urea	mmol/l	3,91 °	1,39
glucosio	mmol/l	0,06	0,17
colesterolo	mmol/l	1,46	0,87
NEFA	meq/l	0,0034	0,0025
AST	U/l	4364,5	2325,45
GGT	U/l	91,61	250,45
CK	U/l	4280,15 °	1758,15
Ca	mmol/l	0,016	0,015
P	mmol/l	0,005	0,09
Mg	mmol/l	3,59	3,75

° : $P < 0,10$

Riguardo all'urea, per la tesi SOIA sono stati riscontrati i valori più elevati e pari a 6.76 mmol/l (*Grafico 4.20*). Secondo quanto descritto da Peyaund (1989) questi livelli sono da collegare con una razione sbilanciata per quanto riguarda il rapporto fra azoto degradabile e energia fermentescibile (eccesso di N e carenza di energia).

Questo è ipotizzabile anche se la proteina della soia somministrata (soia integrale tostata) era caratterizzata da una bassa degradabilità ruminale (alto bypass); poiché la quantità di proteina somministrata con questo alimento era in aggiunta a quella fornita dalla dieta di base (che era stata calcolata in funzione dei fabbisogni), è possibile che questa quota eccedente di azoto degradabile apportata dalla soia non sia stata utilizzata dai microrganismi per una carenza di energia. Conseguentemente l'azoto in eccesso nel rumine, dopo aver attraversato la parete ruminale, è stato trasformato in urea nel fegato e l'urea in circolo, eliminata in parte con il latte.

Grafico 4.20 – Medie least squares dei valori di urea ematica (abc: P<0,05)

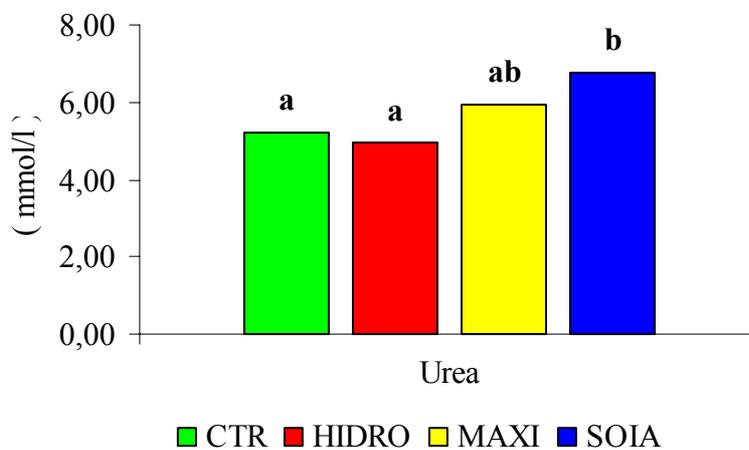
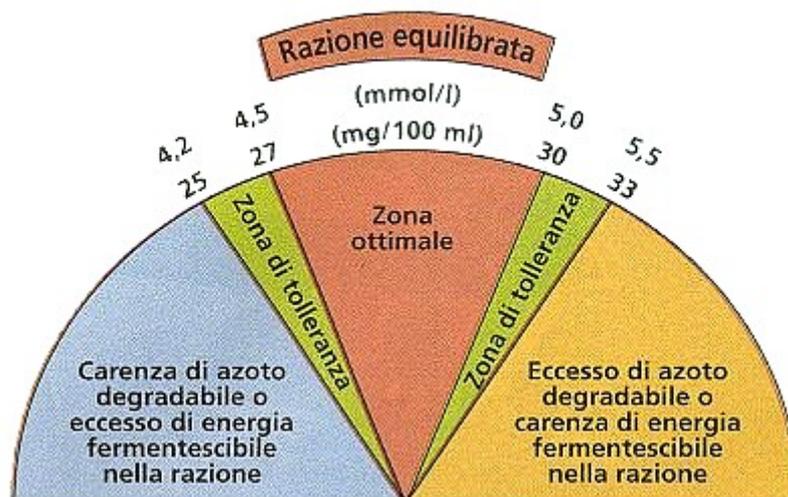


Figura 4.1 - Schema per l'interpretazione dei livelli di urea (Peyauud 1989, modificato).

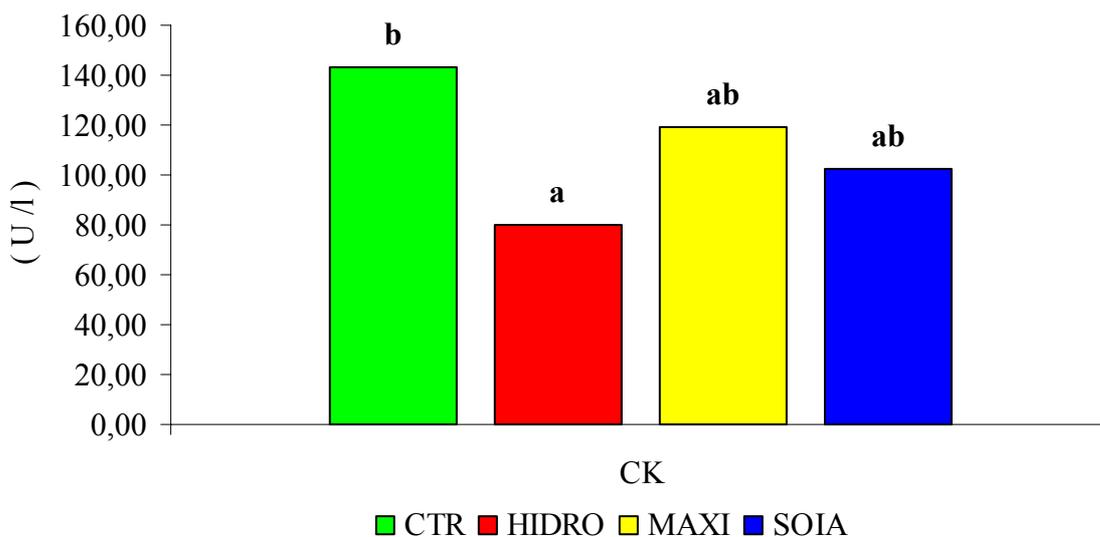


Considerando lo schema proposto da Peyaund (1989) in *figura 4.1*, valori di urea elevati sono stati riscontrati anche nel latte delle bovine della tesi MAXI (5.93 mmol/l). Se invece consideriamo le interpretazioni dei livelli di urea proposte da Bertoni (1999), notiamo che nelle bovine ad altra produzione, i livelli ematici sono da ritenersi normali all'interno di un intervallo compreso tra 4.41 e 5.97 mmol/l

Per quanto riguarda il livello di urea nel sangue delle bovine nella tesi HIDRO, i valori rientrano nel range di optimum attestandosi mediamente a 4,98 mmol/l. (*Grafico 4.21*)

Nella tesi CTR i valori di urea si trovano nella zona di tolleranza (5,2 mmol/l) (Peyaund, 1989), mentre rientrano nell'optimum se consideriamo i dati riportati da Bertoni e coll. (1999).

Grafico 4.21 – Medie least squares dell'enzima creatin kinasi (abc: P<0,05)



4.2.11 Parametri ruminali

L'analisi della varianza dei parametri ruminali, evidenzia dati statisticamente significativi esclusivamente negli acidi grassi volatili minori, quali l'acido n-valerianico ed iso-valerianico (*Tabella 4.20*); analizzeremo comunque i valori del pH ruminale, dell'azoto non proteico e degli AGV (acidi grassi volatili).

Tabella 4.20 – Analisi della varianza dei parametri del liquido ruminale

	unità di misura	Tesi	Errore
G.L.		3	19
pH		0,063	0,095
N-NH3	mg/l	953,9	1468,84
G.L.		3	21
C2 Acetico	mg/ml	0,36	0,63
C3 Propionico	mg/ml	0,05	0,12
C4 Butirrico	mg/ml	0,0044	0,053
iso-butirrico	mg/ml	0,000063	0,00024
n-valerianico	mg/ml	0,0082 **	0,0015
iso-valerianico	mg/ml	0,0054°	0,0019
mg totali	mg/l	1,23	1,86
C2/C3	mg/ml	0,026	0,099
(C2+C4)/C3	mg/ml	0,064	0,15

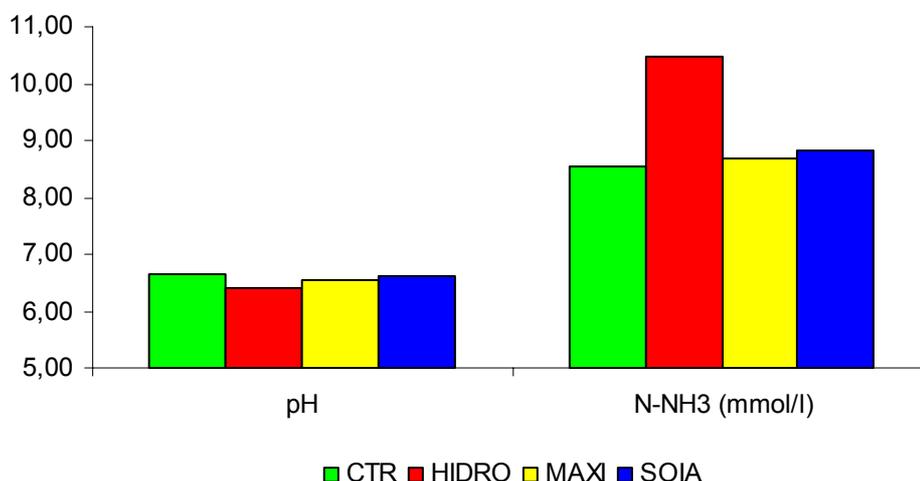
° : P < 0,10

** : P < 0,01

Possiamo evidenziare come i valori di pH si attestino mediamente su valori di 6,55. Il prelievo, a tre ore dal pasto, indicherebbe che i carboidrati più fermentescibili nella dieta abbiano aumentato l'acidità a livello ruminale (*Grafico 4.22*). A livello pratico, è stato osservato che il prelievo di liquido ruminale è risultato difficoltoso, a causa dello scarso contenuto idrico nel rumine; probabilmente la maggior parte delle bovine non aveva bevuto e quindi la ragione di questo pH tendenzialmente basico sia dovuto all'effetto tampone della saliva. Comunque possiamo notare che nelle tesi CTR

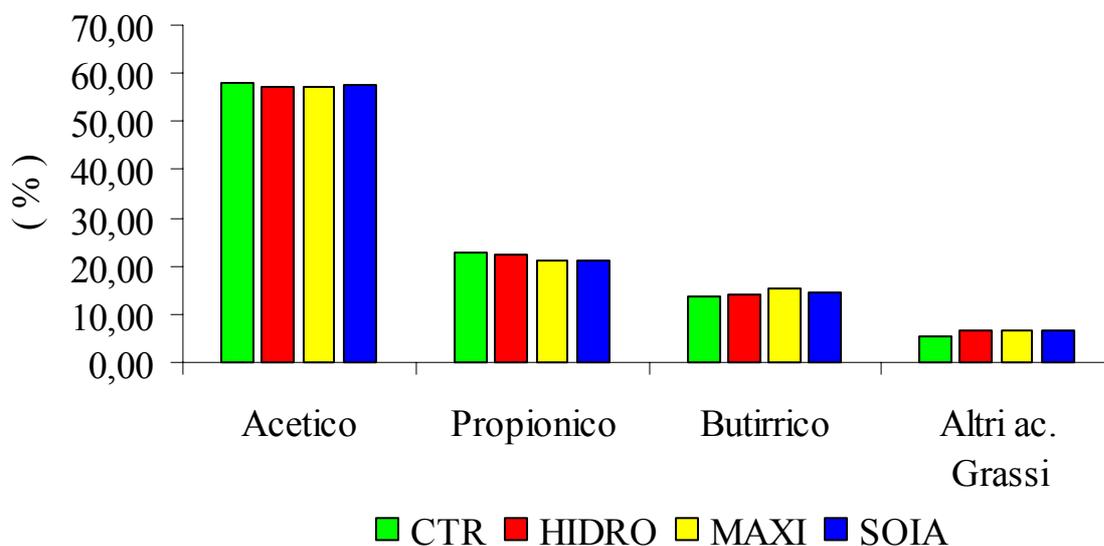
(pH6,65) e SOIA (pH 6,60), i livelli di pH sono di misura superiori alle tesi HIDRO e MAXI.

Grafico 4.22 – Medie least squares dei valori di pH e azoto ammoniacale



Dall'analisi dell'azoto ammoniacale, troviamo valori medi pressoché paragonabili (8.54, 8.67 e 8.82 per CTR, MAXI e SOIA rispettivamente), eccetto per la tesi sottoposta ad integrazione di grasso idrogenato, dove troviamo valori (mediamente di 10.49 mmol/l) che superano del 15% i valori rispetto alla media delle altre tesi. Questi dati, se trasformati in mg, risultano mediamente di 159,8 mg/l rientrando nel range compreso tra 85 e 300 mg/l, come suggerito da vari autori (Mc Donald 1992, Andrighetto et al 1999).

Grafico 4.23 – Medie least squares delle percentuali di AGV



Anche l'analisi degli AGV (*Grafico 4.23*), sebbene anche questi dati non risultino significativi, denota una sostanziale uguaglianza tra i valori delle 4 tesi. L'acido acetico (C2) rispetto all'acido propionico (C3), presenta un rapporto 2.7:1, perfettamente in linea con i valori consigliati dai testi di nutrizione.

5. Conclusioni

I principali risultati ottenuti in questa prova indicano che l'inclusione dei supplementi lipidici può fornire risultati in termini di produzione e qualità del latte molto diversi.

L'uso dell'idrogenato (HIDRO) ha consentito produzioni di latte più elevate (+2.17 kg/d rispetto alla media ante prova) sia rispetto al controllo che alla tesi MAXI, senza modificare sostanzialmente la qualità del latte. Il profilo acidico del latte ha evidenziato un rapporto saturi/insaturi e un contenuto di CLA, non diverso dal controllo ma peggiore rispetto alle 2 tesi con i supplementi. L'ingestione di s.s. (unifeed) è stata comparabile alla tesi di controllo. Fra i parametri ematici, il livello di urea nel sangue è risultato il più basso fra le tesi attestandosi su valori ritenuti ottimali su base bibliografica (Peyaund 1989, Bertoni 1999) mentre l'azoto ammoniacale a livello ruminale è risultato tendenzialmente più alto in questa tesi rispetto alle altre.

L'impiego del sapone (MAXI) ha evidenziato un incremento nella produzione di latte (+0.77 kg/d) comparabile al CTR ma inferiore rispetto alle altre due tesi. Il livello proteico del latte è stato il più alto (3.25%); il tenore di grasso è aumentato rispetto al controllo. È stato osservato un tendenziale peggioramento dei parametri lattodinamografici. L'ingestione di s.s. è stata superiore nella tesi MAXI rispetto alle altre (di circa 0.5 kg/d di s.s.) ma l'assunzione del supplemento è stata parziale in quanto gli animali hanno manifestato uno scarso gradimento di questo prodotto. Il profilo acidico del latte ha evidenziato un favorevole rapporto saturi/insaturi e un significativo aumento dei CLA rispetto alla tesi di controllo e alla tesi HIDRO. Fra i parametri ematici, il livello di urea nel sangue è risultato intermedio fra MAXI e SOIA, al limite dei valori ritenuti ottimali mentre l'azoto ammoniacale a livello ruminale è risultato in linea con le tesi CTR e SOIA.

Riguardo all'inclusione di soia integrale tostata (SOIA), va ricordato che mentre il livello energetico della dieta era comparabile nelle tesi con i supplementi, la percentuale di proteina grezza è risultata significativamente più elevata (+1.57%) in questa tesi rispetto alle altre (MAXI e HIDRO). Anche la percentuale di grasso nel latte è aumentata rispetto al controllo ma è risultata simile a quanto riportato per le tesi con il supplemento. L'incremento nella produzione di latte (+2.07 kg/d) è stato comparabile all'HIDRO e significativamente superiore alle altre due tesi (CTR e MAXI).

Il livello di caseina del latte è risultato il più alto (2.55%). L'ingestione di s.s. è stata bassa nella tesi SOIA rispetto alla tesi MAXI ma simile alle altre. Il profilo acidico del latte ha evidenziato un aumento dei PUFA (5.11 vs. 3.51% degli acidi grassi) e il più elevato contenuto di CLA (0.50 vs. 0.39% degli acidi grassi). Fra i parametri ematici, il livello di urea nel sangue è risultato il più alto fra le tesi e al di fuori degli intervalli di riferimento indicando un eccesso proteico nella dieta rispetto alla disponibilità di carboidrati fermentescibili.

In conclusione questa prova ha evidenziato che l'impiego di supplementi lipidici può essere una valida strategia per aumentare la concentrazione energetica della dieta e sostenere quindi elevate produzioni di latte, soprattutto nella prima fase della lattazione, evitando anche la comparsa di dismetabolie nel post-parto. Va tuttavia evidenziato che l'impiego dell'idrogenato rispetto al sapone ha permesso una superiore produzione di latte, con una minima variazione della qualità del latte prodotto. Questi risultati sono da mettere però in relazione ad una scarsa assunzione del supplemento legata alla bassa appetibilità del sapone (somministrato in questa tesi con la tecnica del top dressing), che può essere facilmente superata includendo questo supplemento nell'unifeed o nel mangime. Riguardo al profilo acidico, in questa prova è emerso come solo mediante l'utilizzo di saponi si è in grado di modificare positivamente il profilo acidico del latte arricchendolo di acidi grassi polinsaturi e, in particolare di CLA. Questo risultato atteso deriva dal fatto che, mentre i grassi saponificati riescono a by-passare il rumine essendo protetti dal processo di saponificazione, negli idrogenati gli acidi grassi insaturi che sono derivati soprattutto dall'olio di palma e palmisto subiscono con l'idrogenazione la completa saturazione (processo che avverrebbe comunque anche nel rumine per acidi grassi non protetti). Riguardo alla soia è da evidenziare che, per raggiungere un comparabile apporto di lipidi rispetto alle diete contenenti i supplementi, sia stato necessario aumentare anche il livello di proteina della dieta. La percentuale di proteina è risultata quindi più elevata in questa tesi (17.83% in media) e superiore rispetto agli standard raccomandati; inoltre il maggior apporto di proteina non è stato adeguatamente supportato dal livello di energia disponibile a livello ruminale (come dimostrano gli elevati valori di urea ematica). Pur con queste premesse, si può concludere che l'aggiunta di soia integrale tostata alla dieta di base ha consentito di migliorare sia la

produzione che la qualità del latte con particolare riferimento al profilo acidico (aumento dei PUFA e dei CLA).

Quindi se l'obiettivo dell'allevatore è esclusivamente quello di migliorare la disponibilità di energia per le bovine nella fase del post-parto, può risultare più opportuno includere un grasso saponificato nella dieta rispetto ad un idrogenato. Se invece si considerano anche gli aspetti di qualità del latte, e soprattutto del miglioramento del profilo acidico, l'introduzione della soia integrale tostata nella dieta per vacche in lattazione rimane una soluzione ottimale, se la razione viene opportunamente bilanciata dal punto di vista del rapporto azoto degradabile/energia fermentescibile. Altre considerazioni devono essere effettuate in funzione dei costi commerciali dei diversi integratori rispetto al valore di mercato della soia, valutando anche la convenienza economica di un'eventuale disponibilità di soia di origine aziendale.

6. Bibliografia

- Antongiovanni M., Buccioni A., Petacchi F., Secchiari P., Mele M. (2003) – Upgrading the lipid fraction of foods of animal origin by dietary means: rumen activity and presence of trans fatty acid and CLA in milk and meat. *Italian Journal of Animal Science*. 2:3-28.
- Antongiovanni M., Gualtieri M. (1998) - *Nutrizione e alimentazione animale*. Edagricole.
- Bailoni L., Bortolozzo A., Mantovani R., Simonetto A., Schiavon S., Bittante G. (2004) Feeding dairy cows with full fat extruded or toasted soybean meal and effects on milk yield, fatty acid profile and CLA content. *Italian Journal of Animal Science*. Vol. 3, 243-258
- Bailoni L., Simonetto A., Tagliapietra F., Mantovani R. (2005) – Changes of particle size distribution and chemical composition of a hay-based ration offered once or twice daily to dairy cows. *Italian Journal of Animal Science*. Vol. 4, 223-231.
- Barsuhn K., Chester S.T., Leedle J.A.Z. (1988) – In vitro detachment of bacteria from ruminal digesta by buffered sodium oleate solution. *Curr. Microbiol.* 16: 337.
- Bertoni G., Piccioli Cappelli F. (1999) – *Guida all'interpretazione dei profili metabolici*. Ed. Centro stampe Università degli studi di Perugia, Perugia.
- Bittante G., Andrighetto I., Ramanzin M. (1993) – *Tecniche di produzione animale*. Liviana Editrice.
- Bittante G., Andrighetto I., Ramanzin M. (1999) – *Fondamenti di zootecnica*. Liviana Editrice.

- Borgioli E. (1985) - Nutrizione e alimentazione degli animali agricoli, II edizione. Edagricole.
- Brunello A. (2002) –Effetto dell’impiego di soia sottoposta a diversi trattamenti sulla qualità e sul profilo acidico del latte bovino. Tesi di laurea, Dipartimento di Scienze Zootecniche, Facoltà di Agraria, Università degli Studi, Padova.
- Bykerstaffe R.D. (1970) – Uptake and metabolism of fat in the lactating mammary gland. In Lactation. I. J. Falconer editions, Butterworth. London. U.K.
- Bykerstaffe R.D., Noakes D.E., Annison E.F. (1972) – Quantitative aspects of fatty acid biohydrogenation, absorption and transfer into milk fat in the lactating goat, with the special reference to the cis and trans isomers of octadecenoate and linoleate. *Biochemistry Journal*. 130: 607-617.
- Calamari L., Bertoni G., Cappa V. (1991b) – Indagine preliminare su taluni fattori che influenzano il consumo di sostanza secca nella nella bovina da latte. *Zoot. Nutr. Anim.* 17, 59-75.
- Caselli L. (1972) – Enciclopedia tecnologica dell’alimentazione animale. Edagricole.
- Caselli R. (1966) – Mangimi composti integrati. Manuale teorico - pratico per il mangimista e per l’allevatore. Edagricole.
- Chalupa W., Rickabaugh B., Kronfeld D.S., Sklan E.D. (1984) – Rumen fermentation in vitro as influenced by long chain fatty acids. *Journal of Dairy Science*. 67: 1439.
- Chouinard P.Y., Levesque J., Girard V., Brisson G.J. (1997) – Performance and profiles of milk fatty acid of cow fed full fat, heat treated soybeans using various processing methods. *Journal of Dairy Science*. 80: 334-342.

- Chouninard P.J., Cornea L., Barbano L.M., Metzger L.E. and Bauman D.E. (1999) – Conjugated linoleic acid alter milk fatty acid composition and inhibit fat secretion in dairy cows. *Journal of Nutrition*. 129: 1579-1584.
- Christie W.W. (1992) – A simple procedure of rapid transmethylation of glycerolipids and cholesteryl ester. *Journal Lipids Research*. 23: 1072-1075.
- Church D.C., Ph D., (1979) – *Livestock feeds and feeding*. O & B Books, Inc. Corvallis, Oregon. U.S.A.
- Commissione delle Comunità Europee, 2000 – *Libro bianco sulla sicurezza alimentare*, Bruxelles, 12 gennaio 2000.
- Dado R.G., Allen M.S. (1995) – Intake limitations, feeding behaviour and rumen function of cows challenged with rumen fill from dietary fiber or inert bulk. *Journal of Dairy Science*. 78:118.
- Dalle Carbonare M. (1994) – *Tecnopatie nella vacca da latte ad alta produzione*. Edizioni l'Informatore Agrario.
- Dawson R.M.C., Hemington N., Hazlewood G.P. (1977) – On the role of higher plant and microbial lipases in the ruminal hydrolysis of grass lipids. *British Journal of Nutrition*. 38: 225-232.
- Dawson R.M.C., Kemp P. (1970) – Biohydrogenation of dietary fats in ruminants. In *Physiology of digestion and metabolism in the ruminant*. Phillipson A.T., editions Oriel Press. Newcastle upon Tyne. U.K. pp. 504-518.
- Dhiman T.R., Anand G.R., Satter L.D., Pariza M.W. (1999) – Conjugated linoleic acid content of milk from cows fed different diets. *Journal of Dairy Science*. 82: 2146-2156

- Dhiman T.R., Satter L.D., Pariza M.W., Galli M.P., Albright K., Tolosa M.X. (2002) - Conjugated linoleic acid (CLA) content of milk from cows offered diets rich in oleic and linolenic acid. *Journal of Dairy Science*. 83: 1016-1027.
- Dhiman T.R., Korevaar A.C., Satter L.D. (1997) – Particle size of roasted soybeans and the effect on milk production of dairy cows. *J. of Dairy Science*. 80:225-232
- Edmondson A.J., Lean I.J., Weaver L.D., Farver T., Webster G. (1989) – A body condition scoring chart of holstein dairy cows. *Journal of Dairy Science*. 72:68-78.
- Ensor W.L., Olson H.H. and Colenbrander V.F. (1970) – A report: committee on classification of particle size in feedstuffs. *Journal of Dairy Science* 53:689-690.
- Falascini A., Verona O., Aghina C., Falascini A.F., Maletto S., Masoero P., Valfrè F. (1977) – Alimentazione degli animali in produzione zootecnica. UTET, Torino.
- Gazzetta Ufficiale n. 147 del 31/05/01 (2001) - Regolamento (CE) n. 999/2001 del 22 maggio 2001. Disposizioni per la prevenzione, il controllo e l'eradicazione di alcune encefalopatie spongiformi trasmissibili.
- Gazzetta Ufficiale n. 82 del 26/03/63 (1963) – Legge n. 281 del 15 febbraio 1963
Disciplina della preparazione e del commercio dei mangimi.
- Giussani A. (2005) – Il latte di qualità. Allevamento, alimentazione e mungitura delle bovine. Edagricole, Bologna.
- Harfoot C.G., Crouchman M.L., Noble R.C., Moore J.H. (1974) – Competition between food particle and rumen bacteria in the uptake of long chain fatty acids and triglycerides. *J. Appl. Bacteriol.* 37: 633.

- Heinrichs A.J., Kononoff P.J. (2002) – Evaluating particle size of forages and TMR's using the Penn State Particle Size separator. Pennsylvania State University.
Home page address: <http://www.das.psu.edu/dcn>
- Heinrichs A.J., Palmquist D.L., Conrad H.R. (1982) – Feed intake patterns of cow fed high fat grain mixtures. *Journal of Dairy Science*. 65: 1325-1328.
- I.N.R.A. (1998) – Aliments des bovins, ovins e caprins. Institut National de la Recherche Agronomique, Paris – France.
- Jensen R.G. (2002) – The composition of bovine milk lipids: January 1995 to December 2000. *Journal of Dairy Science*. 85: 295-350.
- Keeney M. (1970) – Lipid metabolism in the rumen. In *Physiology of digestion and metabolism in the ruminant*. Phillipson A.T., editions Oriel Press. Newcastle upon Tyne. U.K. pp.489-503
- Kepler C.S., Hirons K.P., Mc Neill J.J., Tove S.B. (1966) – Intermediates and products of the biohydrogenation of linoleic acid by *Butyrivibrio fibrisolvens*. *Journal of Biological Chemistry*. 241: 1350-1354.
- Kepler C.S., Tove S.B. (1967) – Biohydrogenation of unsaturated fatty acids. *Journal of Biological Chemistry*. 242: 5686-5694
- Lawless F., Stanton C., L'Escop P., Devery R., Murphy J.J. (1999) – Influence of breed on bovine milk cis-9 trans 11 conjugated linoleic acid content. *Livestock Production Science*. 63: 43-49.
- Maczulak A.E., Dehority B.A., Palmquist D.L. (1981) – Effects of long chain fatty acids on growth of rumen bacteria. *Appl. Environ. Microbiol.* 42: 856.

- Martillotti F., Antongiovanni M., Rizzi L., Santi E., Bittante G. (1987) – Metodi di analisi per la valutazione degli alimenti d'impiego zootecnico. Quaderni metodologici n° 8, IPRA (Incremento Produttività Risorse Agricole). Grafica Triburtina s.r.l.
- Martillotti F., Bartocci S., Terramocchia S. (1996) – Guida all'alimentazione dei ruminanti da latte. Tavole dei valori nutritivi degli alimenti di interesse zootecnico. Edizioni Istituto Nazionale di Economia Agraria, Roma. Italia.
- Mc Guire M.A., Mc Guire M.K. (2000) – Conjugated linoleic acid (CLA): a ruminant fatty acid with beneficial effects on human health. Proceedings. Am. Soc. Animal Science, 1999.
- McDonald P., Edwards R.A., Greenhalgh J.F.D. (1992) – Nutrizione animale. Tecniche nuove, Milano Italia.
- N.R.C. National Research Council (1996) – Carcinogens and anticarcinogens in the human diet. National Academy Press, Washington, DC, USA.
- N.R.C. National Research Council (2001) – Nutrient Requirement of Dairy Cattle. 7th rev ed. National Academy Press, Washington, DC, USA.
- Official Method of Analysis of AOAC INTERNATIONAL. (2000-2003) 17th edition – Dr. William Horwitz, Editor.
- Osl F. (1988) - Determination of low molecular weight fatty acids in hard and semi-hard cheese with head space chromatography. Deutsche-Molkerey-Zeitung. 1988, 109 (45): 1516-1518.
- Palmquist D.L. (1980) – Fat in lactation rations: review. Journal of Dairy Science. 63: 1-14.

- Palmquist D.L., Jenkins T.C. (1982) – Calcium soaps as a fat supplements in dairy cattle feeding. In proceedings of XII World Congress on Diseases of Cattle, Amsterdam. Pp. 477-481.
- Parodi P.W. (1994) – Conjugated linoleic acid: an anticarcinogenic fatty acid present in milk fat. *Australian Journal of Dairy Tech.* 37: 1039-1041.
- Peyaund (1989) in Bertoni G. (1996) – Ambiente, Alimentazione e Qualità del latte. *L'informatore Agrario*, 52 (supplemento al n. 21), 5-41.
- Piccioni M. (1989) – Dizionario degli alimenti per il bestiame. Edizioni Edagricole, Bologna.
- Ramanzin M., Sghanghero M., Cozzi G., Chies L., Bittante G. (1991) – Physical treatment of whole soybeans: effect of toasting and flaking on ruminal degradability of DM and protein. *Zootecnia e Nutrizione Animale*. 17: 4,213-225; 25.
- Retsch (1985) – L'analisi granulometrica. Retsch P.O.B. 1554, Germany.
- Romeo G. (2001) – Cibi funzionali manna o ciarlataneria? Così carne e latte ci proteggono. *Le scienze*. 399: 118-124.
- Sangiorgi F. (2000) – La macchina mungitrice e la mungitura meccanica. Supplemento de *L'informatore Agrario*. 39: 5-34.
- SAS/STAT (2000) – User's Guide. Statistic, Version 6 Edition. Statistical Analysis Institute, Inc., Cary, NC.
- Simonetto A. (1998) – Relazioni tra caratteristiche fisiche degradabilità ruminale e velocità di transito degli alimenti. Tesi di dottorato di ricerca X ciclo. Dipartimento di Scienze Zootecniche, Padova.

- Simopoulos A.P. (2002) – The importance of the ratio of omega6/omega3 essential fatty acids. *Biomed. Pharmacotherapy*. 56:365-379.
- Solomon R., Chase L.E., Ben-Ghedalia D., Barman D.E. (2000) – The effect of non structural carbohydrate and addition of full fat extruded soybeans on the concentration of conjugated linoleic acid in the milk fat of dairy cows. *Journal of Dairy Science*. 83: 1322-1329.
- Sutton J.D. (1980) – Digestion and end product formation in the rumen from production rations. In *Digestive Physiology and Metabolism in ruminants*. (Y. Ruckebusch and P. Thivend, Eds), pp. 271-290. Lancaster, England, MTP Press, Ltd.
- Tilakaratne N., Alliston J.C., Carr W.R., Land R.B., Osmond T.J. (1980) – Physiological attributes as possible selection criteria for milk production. *Animal Production*. 30, 327-340.
- Van Soest P.J. (1994) – *Nutritional ecology of the ruminant*. Cornell University Press.
- Van Soest P.J., Robertson J.B., Lewis B.A. (1991) – Methods for dietary fibre, neutral detergent fibre and non starch polysaccharides in relation to animal nutrition. *Journal of Dairy Science*. 74: 3583-3597.

Abbreviazioni

- a30** – consistenza del coagulo (mm)
ADF – fibra al detergente acido
ADL – lignina al detergente acido
AGV – Acidi grassi volatili
AIA – Ceneri acido insolubili
AST – Aspartato Amino Transferasi
BCS – Body condition score
BLAP – Bovine da Latte ad Alta Produzione
Br – Bruna
Burl – Burlina
CC – contenuto cellulare
CEN – ceneri
ck – Creatin Kinasi
CLA – Conjugated linoleic acids (coniugati dell'acido linoleico)
CTR – gruppo di controllo “C”
dgm – diametro geometrico medio
DIM – Days in milk (giorni di lattazione)
Dis. – disidratato
DM – Dry Matter (sostanza secca)
EE – estratto etereo
EI– estrattivi inazotati
EL – Energia lorda
EMI – emicellulose
f.e. – farina di estrazione
FG – fibra grezza
FI – Frisona Italiana
GC – Gas cromatografia
GGT – γ -Glutamyl Transferasi
HIDRO – gruppo con integrazione di grasso idrogenato Hidropalm “H”
HPLC – High Pressure Liquid Chromatography (cromatografia liquida ad alta pressione)

INRA – Institut National de la Recherche Agronomique
k20 – tempo di rassodamento (min)
LDG – lattodinamografico
MAXI – gruppo con integrazione di grasso saponificato Maxifat “M”
MI – Metodologia interna
MUFA – Mono Unsaturated Fatty Acid (ac. grassi mono insaturi)
NDF – fibra al detergente neutro
NEFA – Not esterificated fatty acids (ac. grassi non esterificati)
NRC – National Research Council
NSC – carboidrati non strutturali
PCV – Packed cells volume
PG– proteina grezza
PR – Pezzata Rossa
PS – prato stabile
PSPSS – Penn State Particle Size Separator
PSU - Pennsylvania State University
PUFA – Poly Unsaturated Fatty Acid (ac. grassi poli insaturi)
r – tempo di coagulazione (min)
RSM – Residuo secco magro
SAS/STAT - Statistical Analysis Institute
SCC – Somatic Cell Count (conta delle cellule somatiche)
SFA – Saturated Fatty Acid (ac. grassi saturi)
SH ° – acidità titolabile (gradi Soxhlet-Henkel)
SOIA - gruppo con integrazione di soia integrale tostata macinata “S”
TMR – Total Mixed Ratio (unifeed)
UFA – Unsaturated Fatty Acid (ac. grassi insaturi)
UFL – Unità Foraggiere Latte
 $\omega 3$ – omega 3
 $\omega 6$ – omega 6