



# **UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI PADOVA**

**FACOLTÀ DI MEDICINA VETERINARIA**

**TESI DI LAUREA IN MEDICINA VETERINARIA**

**IMPIEGO DI DIVERSI LIVELLI DI LINO ESTRUSO NELL'ALIMENTAZIONE DEI BOVINI DA LATTE: EFFETTI  
QUANTITATIVI E QUALITATIVI SULLA PRODUZIONE DI LATTE E SUL TRASFERIMENTO DI ACIDI GRASSI  
DELLA SERIE  $\Omega$ 3.**

**Relatore:**

**CH.MA PROF.SSA LUCIA BAILONI**

**Correlatori:**

**DOTT. ALBERTO SIMONETTO**

**DOTT. MASSIMO DE MARCHI**

**Laureando:**

**LUCA CAPPELLO**

**ANNO ACCADEMICO 2009/2010**

**Agli esseri che Noi chiamiamo Bestie**





## RIASSUNTO

Negli ultimi 20 anni, l'industria lattiero-casearia ha concentrato molte risorse nella ricerca di metodi utili alla produzione di prodotti sempre più salubri per la salute del consumatore.

Questo studio vuole proporsi come un'ulteriore affermazione del concetto che è possibile modificare le proprietà nutraceutiche di un alimento, agendo esclusivamente sulla razione dell'animale.

La prova si basava sul classico modello del quadrato latino 3x3, dove ogni gruppo di bovine era composto da 6 soggetti ciascuno (razza Frisona Italiana e Bruna); la durata della sperimentazione è stata di 65 giorni, suddivisi in tre periodi di somministrazione di 14 giorni ciascuno (intervallati da periodi di transizione di 7 giorni). Prima di iniziare la somministrazione della nuova razione, gli animali vennero sottoposti a 9 giorni di adattamento.

Ai tre gruppi precedentemente formati, vennero somministrati tre livelli di dieta contenenti ciascuno diverse quantità di lino estruso ricco di acido linolenico, questa procedura venne ripetuta durante tre periodi differenti, in modo tale da poter permettere ad ogni gruppo di ricevere le tre integrazioni proposte: L0, L500 ed L1000, contenenti rispettivamente 0g/d, 500g/d e 1000g/d di lino estruso.

Le razioni venivano dispensate durante ciascun periodo di prova ai tre gruppi e in corrispondenza del 7° e del 13° giorno di ciascun periodo (della durata di 14 d), si procedeva con il prelievo del latte utile allo svolgimento dell'esame della qualità, del profilo acidico e per la caseificazione (minicaseificazione).

All'ultimo giorno di ciascun periodo si procedeva con il prelievo ematico e del liquido ruminale, in modo da poter evidenziare possibili squilibri fisiologici causati dal nuovo regime alimentare; con lo stesso scopo, giornalmente vennero registrate le quantità di latte prodotto e del consumo alimentare individuale.

La prova non ha causato nessun tipo di problematica sulla salute degli animali, mentre sono significativi i mutamenti del profilo acidico del latte e del formaggio prodotto. In particolare, si possono apprezzare gli aumenti degli acidi grassi della serie omega 3 e dei CLA (conjugated linoleic acids) ed un miglioramento del rapporto  $\Omega6/\Omega3$ , sia nel latte che nel formaggio.

Dai risultati proposti, viene confermata la capacità del lino estruso di modificare il profilo acidico del latte e conseguentemente anche quello del formaggio, mettendo in rilievo il fatto che l'utilizzo del livello di dieta L500 (500 g/d di lino estruso) può risultare più utile riducendo i costi economici e l'impatto nel lungo periodo sulla salute dell'animale. La precedente affermazione è supportata dal fatto che, dal punto di vista statistico, non vi sono differenze significative tra la tesi L500 e L1000.



## ABSTRACT

During the last 20 years dairy manufacturing has been focusing on research of new methods to produce ealthier products for final consumers.

This work deals with the concept that intervening on daily cows diet it is possible to upgrade nutraceuticals properties of food.

Survey was based on the classic 3x3 latin square model, in which each group was composed by 6 cows (Frisona and Bruna breeds); it lasted for 65 days, with 3 different food administration periods of 14 days each (in between 7 days transition). The first nine days were used as an adaptation period.

Three different diets were dosed to the groups, with different quantities of extruded linseeds (rich of linolenic acid), replicated three times to permit each group to receive three diets: L0, L500 and L1000 with respectively 0g/d, 500g/d and 1000g/d of extruded linseed.

Rations were dispensed everyday for 14 days, during which (on 7<sup>th</sup> and 13<sup>th</sup> day of each period) milk quality and fatty acid profile were analyzed, ending with cheese production.

On the last day of each period we proceeded with blood and ruminal liquid collection, to point out possible physiological imbalances due to the new diet; at the same time individual food consumption and milk production were recorded.

No physiological problem were founded on cow's health, and on the other hand there were some several changes on cheese and milk fatty acid profile, especially on increase of  $\Omega$  3 acids series and CLA (conjugated linoleic acids) and a better ratio of  $\Omega$  6 /  $\Omega$  3, both for milk and cheese.

Results confirmed that extruded linseeds are able to modify fatty acid profile of milk and consequently the same for cheese, emerging that for a long period L500 diet (500g/d extruded linseeds) is the cheaper and healthier way to reach our target. This is confirmed because there is not any significant statistic difference between L500 and L1000 diet.



## INDICE

<b>Riassunto</b> .....	V
<b>Abstract</b> .....	VII
<b>1. Introduzione</b> .....	11
1.1 Lipidi nel latte bovino.....	11
1.1.1 Trigliceridi.....	11
1.1.2 Fosfolipidi.....	11
1.1.3 Acidi grassi.....	12
1.2 Origine e metabolismo dei lipidi del latte bovino.....	13
1.2.1 Metabolismo lipidico ruminale.....	13
1.2.1.a Lipolisi.....	13
1.2.1.b Bioidrogenazione.....	13
1.2.1.c Sintesi lipidica microbica.....	15
1.2.2 Metabolismo lipidico post-ruminale.....	16
1.3 Biosintesi dei CLA.....	16
1.3.1 Sintesi ruminale.....	17
1.3.2 Sintesi tissutale.....	17
1.4 Ruolo dei CLA sulla salute umana.....	17
1.5 Impatto dei CLA sulle performance riproduttive della bovina da latte.....	18
1.6 Strategie impiegate per la modificazione della frazione lipidica del latte bovino .....	19
<b>2. Obiettivi</b> .....	21
<b>3. Materiale e metodi</b> .....	23
3.1 Protocollo.....	23
3.2 Integratori somministrati.....	24
3.3 Procedure di somministrazione.....	24
3.4 Caratteristiche delle bovine in prova.....	25
3.5 Composizione dieta di base.....	26
3.6 Controlli sperimentali.....	26
3.6.1 Alimenti .....	26
3.6.2 Latte.....	26
3.6.3 Sangue.....	27
3.6.4 Liquido ruminale.....	28
3.6.5 Consumi.....	28
3.7 Analisi chimiche.....	28
3.7.1 Dieta di base e Integratori.....	29
3.7.2 Latte.....	30
3.7.3 Sangue.....	31
3.7.4 Liquido ruminale.....	31
3.8 Caseificazione.....	32
3.8.1 Minicaseificazione .....	32
3.8.2 Analisi sul formaggio.....	33

3.9Elaborazione dei dati statistici.....	34
<b>4.Risultati e discussione.....</b>	<b>37</b>
4.1Stato sanitario delle bovine durante la prova .....	37
4.2Caratteristiche chimiche e nutrizionali degli alimenti impiegati.....	37
4.3Caratteristiche chimiche e nutrizionali dell'unifeed.....	38
4.4 Caratteristiche chimiche e nutrizionali dei supplementi proteici ed energetici.....	38
4.5Ingestione alimentare delle bovine in prova.....	40
4.6Produzione di latte.....	41
4.7Qualità del latte.....	41
4.7.1Latte individuale.....	41
4.7.2Latte di caldaia.....	43
4.8Profilo acidico del latte.....	44
4.8.1Profilo acidico latte individuale.....	44
4.8.2Profilo acidico latte di caldaia.....	48
4.9Parametri ematici.....	52
4.10Parametri ruminali.....	54
4.11Parametri caseificazione .....	54
4.11.1Resa formaggio.....	54
4.11.2Profilo acidico formaggio.....	55
4.12Trasferimento omega 3 dalla razione al formaggio.....	60
<b>5. Conclusioni.....</b>	<b>63</b>
<b>6. Bibliografia.....</b>	<b>66</b>
<b>Abbreviazioni.....</b>	<b>71</b>

## 1.INTRODUZIONE

### 1.1 Lipidi nel latte bovino

Il latte bovino contiene circa il 3.5-5% di lipidi totali, dei quali la maggior parte, circa il 98%, è costituita dai trigliceridi mentre i fosfolipidi e gli acidi grassi sono presenti in percentuali che si assestano rispettivamente attorno all'1% e allo 0,5%.

Tra i maggiori costituenti del latte quali il grasso, le proteine ed il lattosio, i lipidi presentano una considerevole variabilità qualitativa e quantitativa durante la lattazione.

Infatti il contenuto di grasso nel latte bovino, come nelle altre specie, varia con la dieta, lo stadio di lattazione, il numero di lattazioni, la razza e la stagione.

Il grasso nel latte è presente in maggior misura sottoforma di glicerolo esterificato con acidi grassi, fosfolipidi, composti steroidei, carotenoidi, colesterolo, acidi grassi liberi e glicolipidi.

#### 1.1.1 Trigliceridi

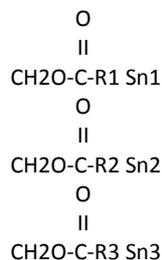
Come riportato nel paragrafo precedente, i trigliceridi rappresentano la famiglia di lipidi più numerosa presente nel latte.

La loro struttura deriva dal processo di esterificazione che coinvolge il glicerolo e gli acidi grassi saturi o insaturi.

I trigliceridi sono costituiti da una molecola di glicerolo e tre acidi grassi, quest'ultimi sono connessi a particolari siti di legame propri della glicerina, denominati Sn1, Sn2 e Sn3.

La disposizione e la tipologia dei FA's (*fatty acid*) lungo i tre siti di legame, incide pesantemente sulla digeribilità e sulle proprietà tecnologiche del latte.

#### Figura 1.1.1 - **Struttura del trigliceride**



I trigliceridi conosciuti non superano le 100 unità, questo dato in un certo senso si scontra con il gioco delle possibili combinazioni che possono avvenire tra la molecola di glicerolo ed gli oltre 50 acidi grassi presenti nel latte.

In realtà, ogni FA ha una specifica affinità di legame con i siti Sn presenti nella molecola di glicerolo, questo comporta che le combinazioni possibili risultino essere un numero nettamente inferiore a quello che teoricamente risulterebbe se ogni acido grasso avesse la medesima affinità di legame con i tre siti.

Alcuni esempi di questo meccanismo sono rappresentati dal C:4 che si lega esclusivamente al sito Sn3 (Christie e Clapperton, 1982) e dal palmitato che è presente in egual misura sia nel Sn1 e Sn2.

La digestione lipidica nell'ambiente intestinale, viene fortemente influenzata dalla tipologia di acido grasso presente a livello del sito Sn2.

Infatti, le lipasi pancreatiche esplicano maggiormente la loro attività a livello dei siti Sn1 e Sn3, permettendo la liberazione del 75% degli acidi grassi legati al glicerolo e la formazione di una molecola 2-monogliceride.

Alla luce dei fatti, la tipologia di acido grasso che si lega nel secondo sito della molecola di glicerolo, influenza i processi digestivi che avvengono a livello della mucosa intestinale (Small et al. 1991).

La modificazione della razione somministrata all'animale, può dunque incidere sulla tipologia dell'acido grasso che si lega al suddetto sito (Sn2); dunque, aumentando la frazione dei PUFA (*poly unsaturated fatty*

*acid*), nella dieta della vacca, per effetto massa si aumenterà la probabilità che il sito Sn2 venga occupato da questa tipologia di FA.

### 1.1.2 Fosfolipidi

I fosfolipidi costituiscono una piccola ma importante frazione dei lipidi del latte, essi sono presenti a livello della membrana del globulo lipidico oppure in forma libera. L'origine delle due forme è la medesima, questa ipotesi è avallata dal fatto che entrambe le tipologie presentano la stessa struttura.

Nel latte sono presenti due tipologie di fosfolipidi: le sfingomieline e i glicerofosfatidi.

I glicerofosfatidi hanno una struttura analoga a quella dei trigliceridi con la differenza che la molecola di glicerina, anziché essere esterificata da tre molecole di acidi grassi, lo è solamente da due molecole di FA e da una di acido fosforico che a sua volta è legato ad una base azotata (es. cefalina e lecitina).

Le sfingomieline presentano al posto del glicerolo una molecola di sfingosina alla quale è legato solamente un acido grasso e una molecola di acido fosforico.

Le sfingomieline più rappresentate nel globulo di grasso sono: la sfingomieline, la fosfatidilcolina e la fostatidiletanolammina (Bitman e Wood, 1990).

### 1.1.3 Acidi grassi

La composizione di acidi grassi del latte risente di numerosi fattori (es. ambientali, genetici, dietetici, periodo di lattazione).

L'alimentazione è il fattore che ha le maggiori ripercussioni sulla composizione acidica del latte, ad esempio, con una dieta a base di foraggio verde, gli animali produrranno un latte più ricco di UFA rispetto a soggetti alimentati con una razione a secco (Giussani A., 2005). Le ripercussioni di questa variazione possono essere riscontrate anche a livello pratico, infatti, un burro ricavato da un latte con un contenuto di acidi insaturi aumentato, risulterà meno consistente.

Sempre Giussani (2005), afferma che la percentuale di grasso nel latte abbia una ereditabilità del 45-50%, mentre sembra che la porzione rimanente sia influenzata esclusivamente dal fattore ambientale (tipo di stalla, clima, tecniche di mungitura, stato sanitario, dieta). Agendo solamente sulla razione, si può variare dal 0,1 al 1 la percentuale di grasso.

Nel latte dei ruminanti sono particolarmente abbondanti gli acidi grassi a catena corta (specialmente l'acido butirrico nella vacca), si trovano inoltre apprezzabili quantità di acidi a media e lunga catena, mentre risultano scarsi gli acidi insaturi come il linoleico, poiché gli UFA (*Unsaturated fatty acid*) in ambiente ruminale vanno incontro al processo di bioidrogenazione (BH) che ne causa una drastica diminuzione.

Nel caso in cui la quantità di acidi grassi insaturi presenti nella dieta venga aumentata, è possibile che una maggiore frazione di questi FA riesca a raggiungere l'abomaso e conseguentemente l'intestino dove poi verranno assorbiti.

La mammella dei ruminanti può sintetizzare abbondanti quantità di acidi grassi partendo dall'acido acetico, propionico o butirrico, i quali, in condizioni fisiologiche, si rilevano in concentrazioni elevate nel sangue. Per quanto riguarda gli acidi grassi a catena lunga, la mammella dei ruminanti utilizza in maggior misura quelli derivati dalla dieta o, in carenza di questi, quelli provenienti dal grasso di deposito.

La ghiandola mammaria dei ruminanti ha la capacità di desaturare gli acidi grassi delle lipoproteine di derivazione ematica o di operare una sintesi *ex novo* di acidi grassi insaturi. Questa operazione interessa solamente alcuni acidi grassi: acido stearico (C18:0) e palmitico (C16:0) che vengono convertiti rispettivamente in acido oleico (C18:1) e palmitoleico (C16:1).

Acidi grassi con catena più corta (C8:0-14:0) non sono interessati dalla desaturazione.

Tabella 1.1.3 - **Acidi grassi nel latte di vacca (%)**

C4:0	3.3
C6:0	1.6
C8:0	1.3
C10:0	3.0
C12:0	3.1
C14:0	9.5
C16:0	26.3
C16:1	2.3
C18:0	14.6
C18:1	29.8
C18:2	2.4
C18:3	0.8
C20-C22	tracce

## 1.2 Origine e metabolismo dei lipidi del latte bovino

Nei paragrafi precedenti è stato brevemente descritto come i bovini riescano a sintetizzare la componente lipidica che si rileva nei prodotti di origine lattiero-casearia.

In particolare si è descritto come i lipidi derivino da particolari meccanismi metabolici siti a livello della ghiandola mammaria e del rumine.

Possiamo dunque suddividere la categoria lipidica in due sottogruppi, uno di origine ruminale e uno di origine post-ruminale .

### 1.2.1 Metabolismo lipidico ruminale

In ambito ruminale, la popolazione batterica espleta un'intensa attività lipolitica che porta alla separazione degli FA's dalla molecola di glicerolo. A questa attività lipolitica prendono parte attiva anche i protozoi del rumine, che inglobano i cloroplasti ricchi di lipidi e li digeriscono.

Successivamente, gli acidi grassi insaturi o polinsaturi, sempre ad opera della popolazione batterica e protozoaria, subiscono un processo di idrogenazione che li trasforma in acidi grassi saturi.

Riassumendo, nel rumine avvengono due importanti processi metabolici che interessano i lipidi: la lipolisi e la bioidrogenazione (BH).

#### 1.2.1a Lipolisi

Questo processo metabolico avviene appena i lipidi ingeriti vengono a contatto con le lipasi microbiche, le quali idrolizzano i trigliceridi in acidi grassi liberi e glicerina.

La glicerina viene principalmente utilizzata dai batteri per la produzione di acido propionico.

L'isomerizzazione e la saturazione dei principali acidi grassi a catena lunga, come l'acido linoleico e linolenico, avvengono grazie all'attività di alcuni batteri quali: *Butyrivibrio fibrosolvens*, *Treponema bryantii*, *Eubacterium spp.*, *Fusocillus spp.*, e *Micrococcus spp.*

I trigliceridi vengono utilizzati da questi microorganismi non solo durante le reazioni biochimiche sopracitate, ma anche come substrato di crescita.

#### 1.2.1b Bioidrogenazione

Una volta che i trigliceridi sono andati incontro al processo di lipolisi, alcuni acidi grassi, quali l'acido linoleico ed il linolenico, vengono processati tramite la bioidrogenazione.

L'emivita nel rumine degli UFA (*Unsaturated fatty acid*) è decisamente breve proprio a causa di questo meccanismo, il motivo di questa drastica riduzione (60-90%) non è ancora del tutto chiaro e sembra

connesso ai possibili effetti tossici causati dagli UFA a livello ruminale (Jenkins et al., 2008). Un prerequisito fondamentale per l'espletamento della BH è la lipolisi, senza questo passaggio i batteri coinvolti nella bioidrogenazione, come il *Butyrivibrio fibrosolvens*, non potrebbero processare gli acidi grassi liberi.

I batteri coinvolti in tale processo, possono essere divisi in due gruppi: il primo, chiamato gruppo A, annovera tutti quei ceppi in grado di ridurre l'acido linoleico e l'acido linolenico fino alla forma C18:1*trans*11, mentre il secondo gruppo, denominato B, causa la riduzione sino alla forma C18:0.

Gli acidi grassi che presentano legami *cis*9, *cis*12 vengono in un primo momento attaccati da delle isomerasi che convertono il legame *cis*12 in *trans*11, queste isomerasi per funzionare richiedono la presenza di un gruppo carbossile libero e nel caso dei PUFA del diene *cis*9, *cis*12 (Bauman et al., 1999).

L'acido linolenico ed il linoleico sono frequentemente coinvolti in questo processo, in virtù del fatto che in entrambi troviamo il diene *cis*9, *cis*12: 18:3 *cis*9,*cis*12,*cis*15 (acido linolenico) e 18:2 *cis*9, *cis*12 (acido linoleico).

Il risultato finale della BH ruminale è la formazione dell'acido stearico (18:0), anche se rinveniamo nei prodotti quali il latte e la carne bovina, importanti intermedi come l'acido vaccenico (VA) C18:1*trans*11 e l'acido rumenico (RA) C18:2 *cis*9,*trans*11,*cis*12.

L'ultimo passaggio della bioidrogenazione dell'acido linoleico, che porta alla formazione dell'acido stearico dal vaccenico, è piuttosto lenta ed alcuni intermedi possono venir assorbiti nel torrente circolatorio ed essere conseguentemente rintracciati nei prodotti di origine animale sotto forma di CLA.

Più precisamente è l'acido vaccenico che a livello ruminale si accumula e nel caso in cui venga assorbito, a livello tissutale viene convertito in acido rumenico (18:2 *cis*9,*trans*11,*cis*12,) da una reazione di ossidazione mediata dall'enzima stearoil CoA-Desaturasi (SCD) (Ntambi et al., 2004).

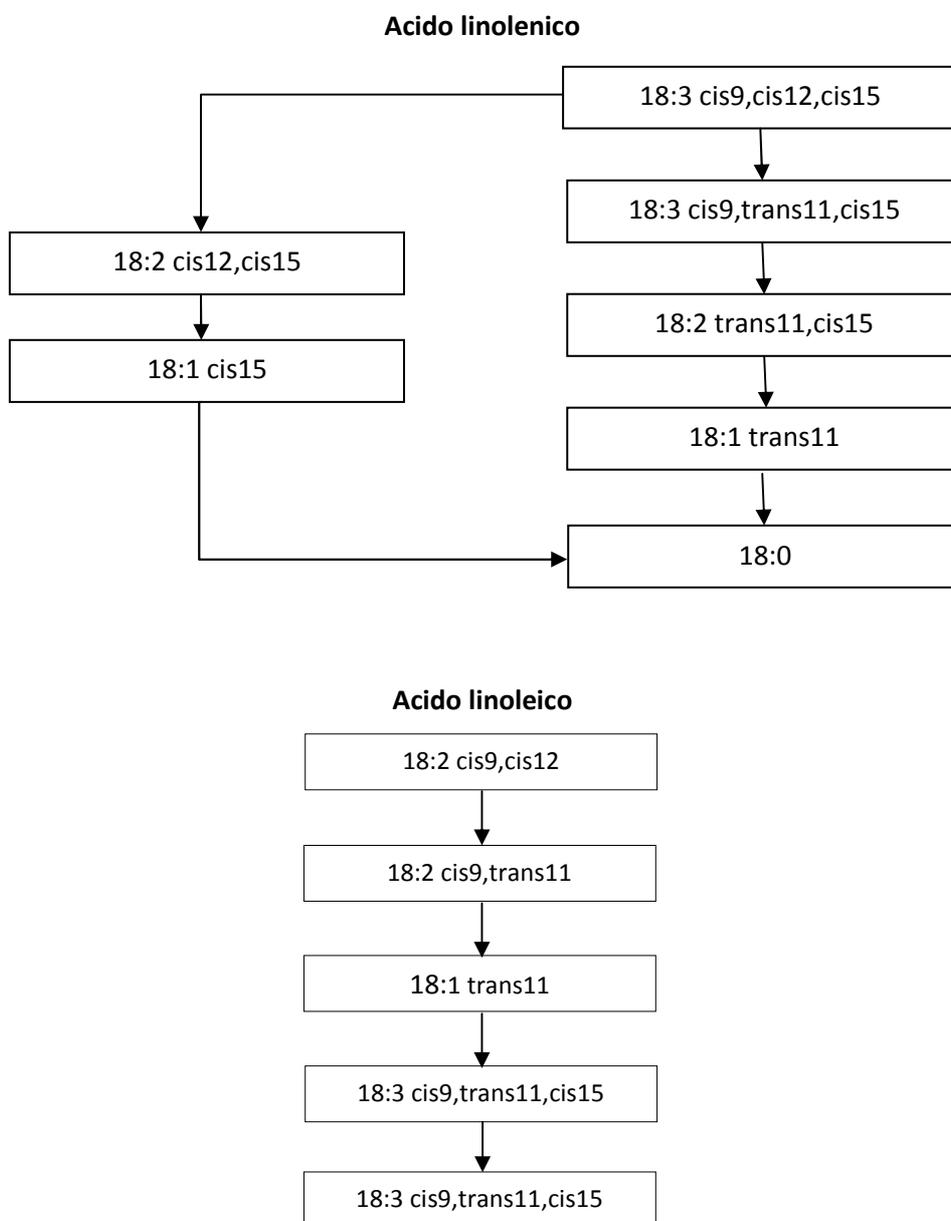
E' stato approfonditamente studiato l'effetto diretto della concentrazione di acido linoleico (LA) sull'attività della BH e si è scoperto che al variare della concentrazione di LA varia pure l'efficienza di conversione del C18:1*trans*11 in C18:0, infatti la presenza del suddetto acido inibisce irreversibilmente il processo (Harfoot et. Al., 1973).

Inoltre altri fattori come il grado di maturazione del foraggio e la tipologia di grassi somministrati possono variare l'attività della BH; Huang et al.(2008) nel loro lavoro dimostrarono come l'inclusione di acidi protetti sottoforma di Sali di calcio nella dieta, porti ad una riduzione dell'attività della BH.

Infine anche le dimensioni delle particelle di alimento presenti nel rumine concorrono alla modulazione di questo processo biochimico, infatti l'intensità della BH è inversamente proporzionale alla grandezza delle particelle di alimento presenti nella razione.

La figura 1.2.1 riporta il destino dell'acido linoleico e linolenico una volta giunti nel rumine.

Figura 1.2.1 - **Bioidrogenazione dell'acido linolenico e dell'acido linoleico**



### 1.2.1.c Sintesi lipidica microbica

I lipidi prodotti dai batteri hanno un'origine endogena ed una esogena. La prima deriva dalla sintesi *de novo* operata dai suddetti microrganismi mentre la seconda ha origine dai lipidi ingeriti tramite la dieta.

La prima via metabolica, quella che porta alla sintesi *de novo*, concorre principalmente alla formazione del C18:0 e C16:0 in un rapporto di circa 2:1 (Bauchart et al.,1990).

Harfoot et al. (1978) hanno dimostrato come l'assunzione da parte dei batteri di acetato e glucosio porta alla formazione di FA non ramificati a catena lunga con un numero di C pari, mentre l'assorbimento di propionato e valerato conduce alla sintesi di acidi grassi a catena lunga lineare con un numero dispari di C. Gli acidi grassi ramificati nella forma iso o anteiso derivano invece da substrati quali l'isobutirrato, l'isovalerato e 2-metil-butirrato.

I MUFA vengono prodotti seguendo una particolare via anaerobica partendo dai VFA per arrivare alla formazione di C16:1 e C18:1 (Jenkins, 1992).

Per quanto riguarda i PUFA esistono solamente i cianobatteri in grado di produrli, altri ceppi batterici possono solo assorbirli dal liquido ruminale per immagazzinarli sotto forma di fosfolipidi di membrana.

### 1.2.2 Metabolismo lipidico post-ruminale

Mentre nei non ruminanti la sintesi lipidica si svolge quasi esclusivamente a livello epatico, nei ruminanti un ruolo fondamentale è svolto dalla ghiandola mammaria e dal tessuto adiposo.

Nei paragrafi precedenti abbiamo visto come le fermentazioni ruminali portino alla formazione dei VFA, questi acidi grassi, rappresentati dall'acido propionico, dall'acetico e dal butirrico, passano al torrente circolatorio per semplice diffusione attraverso le pareti del rumine.

L'assorbimento dei VFA è mediato, oltre dalla loro concentrazione, anche dal pH, infatti valori nettamente acidi ne favoriscono la diffusione attraverso la mucosa ruminale poiché mantengono gli acidi grassi nella loro forma dissociata, che rende più facile il passaggio dei VFA verso il comparto ematico.

L'acido butirrico nel sangue portale è presente in concentrazioni nettamente inferiori rispetto a quelle riscontrate nel rumine, questo avviene perché l'epitelio ruminale utilizza questa tipologia di acido grasso come substrato energetico, dando luogo alla formazione di corpi chetonici ( $\beta$ -idossibutirrato, acido acetico e acetone).

Come accennato pocanzi, sia la ghiandola mammaria che il tessuto adiposo giocano un ruolo fondamentale nella sintesi lipidica, con la differenza che in lattazione la ghiandola mammaria svolgerà un'attività più intensa rispetto al periodo di asciutta.

La sintesi mammaria di acidi grassi porta alla formazione di strutture con catene carboniose aventi un numero di C compreso tra 4 e 16 (SCFA).

Si riconoscono due meccanismi di biosintesi degli acidi grassi: uno citoplasmatico e uno mitocondriale che perfeziona il precedente (Secchiari et. al., 2002). Il primo processo è responsabile della sintesi degli acidi grassi fino a C16, coinvolge due importanti enzimi: la Sintasi degli acidi grassi (FAS) e l'Acetil-CoA Carbossilasi (ACC).

A partire dall'Acetil-CoA, la ACC catalizza la formazione del malonil-CoA il quale può andare incontro a reazioni cicliche di condensazione, catalizzate dalla FAS, fino alla formazione del palmitoil-CoA (C16).

Al contrario, negli altri tessuti, la sintesi mitocondriale interviene allungando l'acido palmitico fino a 22C; nei microsomi solamente gli acidi grassi con almeno 18C possono essere ulteriormente allungati e/o desaturati.

Gli acidi grassi che provengono dalla dieta o dalle riserve corporee, vengono captati direttamente dal circolo ematico dalle cellule della ghiandola mammaria; quest'ultima, come accennato sopra, non è in grado di sintetizzare FA con catene più lunghe di 16C, tuttavia riesce a convertire notevoli quantità di acido stearico (C18:0) in acido oleico (C18:1) grazie all'azione dell'enzima SDC (Kinsella, 1972).

### 1.3 Biosintesi dei CLA

Come si è potuto apprendere dai paragrafi precedenti la sintesi dei CLA avviene sia in ambito ruminale, attraverso il processo di bioidrogenazione dell'acido linoleico e dell'acido linolenico, che in quello tissutale dove il C18:1*trans*1 (VA) è utilizzato come substrato per la loro formazione.

### 1.3.1 Sintesi ruminale

Il destino dell'acido linoleico e dell'acido linolenico all'interno del ruminante è quello di andare incontro alla BH, meccanismo tramite il quale, da questi composti vengano sintetizzati i CLA. Fondamentalmente, i responsabili della biosintesi dei coniugati dell'acido linoleico sono due gruppi di batteri (A e B), che sono in grado di sintetizzare rispettivamente il 18:1*trans*11 e 18:0.

L'acido vaccenico (C18:1*trans*11) rappresenta un importante intermedio nella formazione dei CLA, infatti l'ultima reazione che porta alla formazione del C18:0 (acido stearico) dal VA è piuttosto lenta e ciò permette al VA di accumularsi in ambito ruminale e successivamente essere assorbito.

Anche il C18:1*trans*7, altro intermedio della bioidrogenazione, porta alla formazione di un altro CLA, il 18:2*trans*7*cis*9.

### 1.3.2 Sintesi tissutale

L'ipotesi che il VA ricoprisse un ruolo fondamentale nella sintesi dei CLA nacque grazie ad alcuni studi che misero in evidenza una correlazione piuttosto elevata tra la concentrazione di VA e il C18:2*cis*9*trans*11 (Bauman et al., 2001).

Esner et al. (1999) scoprirono una correlazione tra i due FA con  $r=0,62$  nella carne, valore che si avvicina a quello che si riscontra nel latte (Jahreis et al., 1999).

A livello tissutale è presente un enzima denominato  $\Delta 9$  Desaturasi in grado di convertire gli intermedi della bioidrogenazione ruminale in CLA (es. VA in C18:2*cis*9*trans*11), (Corl et al., 2001).

Questo enzima, ha il compito di introdurre un doppio legame in posizione 9 e 10 nella catena carboniosa degli acidi grassi.

Il stearoil-CoA e il palmitoil-CoA rappresentano i substrati maggiormente utilizzati da questo complesso enzimatico che li utilizza in modo tale da poter ottenere acidi grassi con un livello di insaturazione elevato che successivamente andranno a comporre la struttura dei trigliceridi e dei fosfolipidi.

Si può intuire quale importante ruolo fisiologico espleti questo sistema enzimatico, grazie al quale si producono acidi grassi che, avendo un grado di insaturazione elevato, andranno ad apportare una maggiore stabilità alle membrane cellulari.

Oltre al stearoil-CoA e il palmitoil-CoA, la  $\Delta 9$  Desaturasi è in grado di utilizzare come substrato anche il C18:1*trans*11 (VA) convertendolo, dopo l'aggiunta di un doppio legame in posizione 9, in C18:2*cis*9*trans*11 che rientra nella famiglia dei CLA (Bauman et al., 2001).

I CLA più numerosi negli alimenti sembrano essere il C18:2*cis*9*trans*11 e il C18:2*trans*10*cis*12; la sintesi del *cis*9*trans*11 avviene sia in ambito ruminale che tissutale, mentre sembra che il *trans*10*cis*12 venga prodotto esclusivamente a livello ruminale. Una condizione che favorisce la produzione del *trans*10*cis*12 è l'abbassamento del pH ruminale, dovuto per esempio ad un basso rapporto foraggi/concentrati; in questa situazione la produzione di VA diminuirà in favore del C18:2 *trans*10*cis*12 (Griinari et al., 1999).

## 1.4 Ruolo dei CLA: salute umana e impatto fisiologico

Al giorno d'oggi le condizioni medico sanitarie dei paesi più sviluppati, hanno raggiunto livelli tali da permettere una maggiore sensibilizzazione verso tematiche connesse allo stile di vita.

Il consumatore è sicuramente più informato e attento di un tempo sui rischi che incorre seguendo un'alimentazione non equilibrata e termini quali ipertensione, ipercolesterolemia e aterosclerosi rientrano oramai nel gergo comune.

Dunque, grazie ad una maggiore informazione e ad una crescente consapevolezza, tutti noi siamo portati a scegliere accuratamente ciò che mangiamo.

E' inutile negare che fattori di rischio come il fumo e l'inquinamento atmosferico, hanno aumentato di non poco alcune gravi patologie del sistema cardiocircolatorio e respiratorio.

E' proprio in questa situazione che il consumatore quando sceglie un prodotto alimentare focalizzerà la sua scelta verso quegli alimenti che riducano il più possibile l'impatto nocivo a livello dell'organismo.

Alimenti quali il latte e i suoi derivati, più o meno ricchi di grassi, costituiscono dei pilastri fondamentali nelle nostre abitudini alimentari e il loro uso deve essere condotto con responsabilità visto che in numerose patologie come la CHD (cardio heart disease), l'aterosclerosi e l'obesità, i grassi di origine animale rappresentano importanti fattori di rischio che, in concomitanza con un loro abuso o in presenza di patologie pregresse, possono causare gravi danni alla salute.

I CLA's sono oggetto di numerosi studi atti a chiarire come questa classe di FA interagisca con i normali equilibri fisiologici e quali impatti possano derivare dal loro consumo sulla salute umana.

Importanti studi (Pariza et al., 2001) hanno evidenziato l'attività anticancerogena dei CLA mediante prove *in vivo* e il loro ruolo nella prevenzione delle coronaropatie. Inoltre è stata riconosciuta ai CLA un'azione immunomodulante, antidiabetica (diabete tipo 2) ed anticolesterolemica.

Sembra, che solo alcuni isomeri appartenenti alla famiglia dei CLA siano in grado di espletare la loro benevola attività biologica, tra questi un'importante ruolo è sicuramente ricoperto dagli isomeri *cis9trans11* e *cis12trans10*.

All'isomero *cis9trans11* (acido rumenico) è stata riconosciuta un'attività anticancerogena legata alla capacità di ridurre la sintesi dell'acido arachidonico. L'AA (acido arachidonico) è il precursore degli eicosanoidi (oltre che dei leucotrieni e delle prostaglandine), i quali ricoprono un importante ruolo nel processo di carcinogenesi.

L'altro isomero, *cis12trans10*, sintetizzato a livello tissutale, è in grado, secondo Pariza et al. (1999), di interferire con l'attività della lipoproteinlipasi e stearoil CoA-desaturasi situati negli adipociti, impedendo così l'ingresso dei lipidi nelle suddette cellule.

L'importante attività anticolesterolemica riconosciuta ai due isomeri, viene espletata attraverso la diminuzione del colesterolo LDL plasmatico, diretto responsabile della formazione delle placche ateromatose; oltretutto, la funzione antiaterosclerotica sembra connessa alla capacità del *cis9trans11* di competere con l'AA diretto precursore dei TXA<sub>2</sub> (trombossani), promotori dell'aggregazione delle placche aterosclerotiche.

### 1.5 Impatto dei CLA sulle performance riproduttive della bovina da latte

Nell'allevamento di bovine da latte, la gestione dell'aspetto riproduttivo ricopre un ruolo di primaria importanza. Le performance riproduttive degli animali sono legate ad una moltitudine di fattori che spaziano dalle condizioni igienico-sanitarie dell'allevamento, allo stress a cui le bovine sono sottoposte senza dimenticare il tipo e la qualità dell'alimentazione.

In questo studio, uno degli obiettivi primari era sicuramente quello di individuare possibili ripercussioni qualitative e quantitative derivate dal supplemento dietetico somministrato sulla salute della bovina.

I meccanismi fisiologici della riproduzione, partendo dalla formazione dei gameti sessuali fino al parto, sono stati studiati approfonditamente e si conosce quanto siano suscettibili alcuni meccanismi mediati dall'influenza ormonale. Si pensi solo che una minima traccia di PGF<sub>2α</sub>, derivante da un processo infiammatorio, può compromettere irrimediabilmente una gestazione ai primi stadi.

La biosintesi e la secrezione delle prostaglandine endometriali della serie F<sub>2α</sub>, sono depresse in presenza dei LCPUFA (Mattos et al. 2003; Caldari-Torre et al., 2006) mentre il rilascio delle medesime prostaglandine in

ambiente uterino, viene fortemente inibito se alle bovine vengono somministrati supplementi dietetici contenenti semi di lino (Thatcher et al., 1997; Cheng et al., 2001).

Si conosce perfettamente il processo biochimico che porta alla formazione delle prostaglandine, tale processo ha come punto di partenza l'acido arachidonico (AA) il quale origina dall'azione di una lipasi che utilizza i fosfolipidi della membrana cellulare per sintetizzarlo. L'inibizione della sintesi delle  $PGF_{2\alpha}$  causata dai PUFA, deriva dalla sostituzione dell'AA endogeno con un acido grasso esogeno (derivante dalla dieta), questa sostituzione comporta una diminuzione della sintesi dei prostanoidei della serie 2 (diretti precursori della prostaglandine sopracitate) che si manifesta in una diminuita sintesi delle  $PGF_{2\alpha}$ .

Attorno al 17° giorno post-estro (dopo l'inseminazione), l'embrione comincia a produrre  $IFN\tau$  il quale rappresenta uno dei segnali di avvenuto concepimento. La produzione di tale ormone, impedisce la liberazione delle  $PGF_{2\alpha}$  preservando così il corpo luteo; inadeguati livelli di interferone  $\tau$  conducono ad un'inevitabile morte embrionale.

La problematica legata ad una bassa produzione di  $IFN\tau$ , può essere in parte controllata agendo su determinati precursori della prostaglandine della serie  $F_{2\alpha}$ , infatti è riconosciuto come precursore di tale serie l'acido linoleico (C18:2n6) che viene convertito in AA (precursore delle  $PGF_{2\alpha}$ ), mentre dall'acido linolenico (C18:3n3) si forma l'acido eicosapentanoico (C20:5n3) precursore di un'altra serie di prostaglandine, le  $PGF_{3\alpha}$  (Abayasekara and Wathes, 1999). Quest'ultime, rispetto alle  $PGF_{2\alpha}$ , hanno un'attività biologica inferiore, comportando così un rischio di luteolisi nettamente più basso.

Dunque, aumentando l'apporto di acidi della serie  $\Omega 3$  nella dieta della bovina, si causa una diretta diminuzione della produzione di  $PGF_{2\alpha}$  (Mattos et al., 2002).

E' stato scientificamente dimostrato che diete contenenti semi di lino, aumentano il tasso di concepimento nelle vacche in lattazione, in virtù del fatto che questa tipologia di risorse alimentari contengono circa il 50% di C18:3n3 (Petit et al., 2001; Ambrose et al., 2006).

#### 1.6 Strategie impiegate per la modificazione della frazione lipidica del latte bovino

Le motivazioni che portano ad implementare la dieta dei bovini da latte con fonti lipidiche, vanno ricercate nella necessità di far fronte ad eventuali periodi dove le richieste energetiche subiscono delle impennate (inizio lattazione) e per la necessità di modificare il profilo acidico del latte.

Oltre alle suddette motivazioni, recentemente si è instaurata la volontà di ottenere, attraverso il latte, un prodotto dalle sempre più spiccate proprietà nutraceutiche. Infatti, molti studiosi hanno impiegato le loro conoscenze per ricercare i metodi più adatti e con il minor impatto sull'animale (sia dal punto di vista sanitario che produttivo), per aumentare in tal senso la qualità del prodotto.

Nel riquadro sottostante, pubblicato sul Libro bianco del latte e prodotti lattiero-caseari (2007), vengono riportate le differenze tra un ipotetico latte ideale e quello che normalmente viene consumato:

LATTE IDEALE	LATTE NORMALE
SFA: 8%	SFA: 67-70%
MUFA: 82% (circa)	MUFA: 26-32%
PUFA: <10%	PUFA: 4%

Dal punto di vista pratico il raggiungimento di tali obiettivi è impossibile, basti pensare che si dovrebbero abbassare i SFA di circa il 60%.

Comunque è possibile modificare la componente acidica che causa le problematiche maggiori dal punto di vista della salute; l'ipercolesterolemia è la conseguenza dell'azione della componente satura (C12:0, C14:0,

C16:0), tuttavia il C18:0 risulta più efficace nell'abbassare il colesterolo plasmatico rispetto al C18:1 (Grummer, 1991).

L'aggiunta nella razione base di semi di oleaginose (es. lino e soia), opportunamente trattati, può favorire per esempio l'incremento dei CLA. Il trattamento che subiscono determinati semi risulta fondamentale, poiché si è notato che la somministrazione tal quale del seme non lavorato, non ha nessuna ripercussione a livello del profilo acido (Dhiman et al., 1997).

Come proposto da Jensen et al. (2002), strategie quali l'utilizzo di grassi sottoforma di Sali di Calcio o l'impiego di fonti contenenti acidi grassi insaturi, apporta sicuramente un aumento dei CLA.

Oltre alle tecniche legate all'alimentazione, non si devono dimenticare le potenzialità del miglioramento genetico (effetto razza) e la modificazione dell'ambiente ruminale andando ad agire sulle popolazioni microbiche.

In questa prova, come fonte di integrazione, venne scelto il lino estruso per il suo alto contenuto di acido linolenico (47% EE); il processo di estrusione risulta indispensabile per evitare l'effetto tossico di un glucoside presente nei semi di lino raccolti allo stato immaturo, denominato linamarina.

## 2.OBIETTIVI

La modificazione della razione di bovine da latte può condurre a problematiche quali la diminuzione dell'ingestione della sostanza secca, la diminuzione della produzione, insorgenza di squilibri metabolici e problemi agli arti.

Con la presente sperimentazione si voleva valutare l'effetto dovuto alla somministrazione di diversi livelli di lino estruso, al fine di:

- Quantificare il grado di trasferimento di singoli acidi grassi della serie  $\Omega 3$  nel latte e nei formaggi
- Valutare gli effetti dell'inclusione del lino estruso sulla quantità e qualità del latte, sulla salute degli animali e sui principali parametri ruminali e metabolici



### 3.MATERIALE E METODI

#### 3.1Protocollo

La prova si basava sul modello del quadrato latino 3X3, dove ad ogni gruppo di animali corrispondeva un livello di dieta differente che mutava in funzione del periodo di somministrazione.

Le diete in questione vennero costituite servendosi di lino estruso (presente nelle tesi proposte in tre livelli differenti) e bilanciate dal punto di vista energetico e proteico utilizzando soia f.e. e grassi idrogenati (magnapac).

La dieta di controllo, denominata L0, non prevedeva la presenza di lino al suo interno, mentre le tesi L500 e L1000 ne contenevano rispettivamente una quantità di 500g/d e 1000g/d.

Il lino estruso utilizzato era il prodotto commerciale Linoies distribuito dalla Cortal Extrasoy (Cittadella, Padova).

La durata complessiva prevedeva un periodo di 65 giorni, in cui i primi 9 servirono alle bovine per adattarsi al nuovo ambiente e per stabilire le nuove gerarchie.

Conclusosi il suddetto periodo di adattamento, iniziò il primo dei tre periodi sperimentali durante i quali vennero somministrate, a rotazione, le differenti tipologie di diete che verranno descritte nel dettaglio nei prossimi paragrafi.

Ciascuno dei periodi di somministrazione aveva una durata di 14 giorni, al termine dei quali iniziava un nuovo periodo di 7 giorni, denominato periodo di transizione, nel quale gli animali non ricevevano nessun supplemento dietetico.

Durante lo svolgimento della prova, vennero selezionati specifici giorni utili al prelievo di latte, sangue, liquido ruminale e alla rilevazione di alcuni dati quali il consumo alimentare e la quantità di latte prodotta.

La tabella 3.1a riporta il modello sperimentale con i tre livelli di dieta.

Tabella 3.1a **Quadrato latino**

<b>Periodo</b>	<b>Giorni</b>	<b>Box5</b>	<b>Box 6</b>	<b>Box 7</b>
<b>Adattamento</b>	1-9 (9)			
<b>Periodo 1</b>	10-23 (14)	L0	L500	L1000
<b>Transizione</b>	24-30 (7)			
<b>Periodo 2</b>	31-44 (14)	L500	L1000	L0
<b>Transizione</b>	45-51 (7)			
<b>Periodo 3</b>	52-65 (14)	L1000	L0	L500

Per lo svolgimento della prova sono stati selezionati 18 capi, di razza Frisona Italiana e Bruna, con uno stadio di lattazione compreso tra i 55 e 296 giorni.

I suddetti soggetti sono stati poi divisi in 3 gruppi omogenei per: stadio di lattazione, produzione di latte, ordine di parto e BCS. Una volta costituiti i gruppi, gli animali vennero collocati in tre box separati (precisamente il 5, 6, 7) opportunamente allestiti per consentire ad ogni individuo la somministrazione del rispettivo livello di dieta.

### 3.2 Integratori somministrati

I tre livelli di tesi furono preparati servendosi dei seguenti alimenti: soia f.e., grassi saponificati (magnapac) e lino estruso (Linoies); la tabella 3.2a riporta le PG, EE e % di acido linolenico:

Tabella 3.2a **Caratteristiche integratori**

	<b>Linoies</b>	<b>Soia f.e</b>	<b>Grassi saponificati</b>
<b>PG(%tq)</b>	24,5	49,5	0
<b>EE(%tq)</b>	34,5	3,7	84
<b>Acido Linoleico(%EE)</b>	47	8	0

Le singole razioni, come dimostra la tabella 3.2b, furono bilanciate in modo tale da ottenere diete isoenergetiche e iso proteiche.

Tabella 3.2b **Integrazione per vacca**

	<b>L0</b>	<b>L500</b>	<b>L1000</b>
<b>Quantità lino estruso (gr/d)</b>	0	500	1000
<b>Quantità soia f.e. (gr/d)</b>	495	248	0
<b>Quantità grassi saponificati (gr/d)</b>	389	194	0

### 3.3 Procedura di somministrazione

La procedura di somministrazione prevedeva la cattura degli animali ed il successivo posizionamento, lungo tutto il fronte mangiatoia, di apposite strutture contenenti 6 cassette (una per animale). Tali procedure si svolgevano nel periodo post mungitura del mattino.

In ogni contenitore venivano versate manualmente le razioni, seguendo lo schema del quadrato latino sopra riportato, in modo tale che il singolo animale potesse assumere la totalità dell'integrazione senza venire disturbato dagli altri soggetti presenti all'interno del box. Una volta che ogni bovina terminava l'ingestione, si liberavano gli animali dalla cattura e si procedeva con la rimozione delle cassette, in modo tale da permettere lo scarico dell'unifeed tramite carro miscelatore (*ad libitum*).

Di norma, durante la somministrazione della singola razione (L0, L500 o L1000), non veniva aggiunto unifeed; solamente nei casi in cui la bovina si presentava restia all'ingestione dell'integrazione proposta, si procedeva con l'aggiunta di circa 3Kg di miscela unifeed per rendere più appetibile l'alimento.

Oltre alle due categorie di alimento sopra citate (unifeed e integrazione), ogni animale poteva usufruire di una certa quantità di supplemento dietetico distribuito dall'autoalimentatore presente in stalla.

Questo supplemento consisteva in una miscela di mais e soia f.e. che veniva liberato in apposite mangiatoie sistemate all'interno di ogni box. L'animale poteva accedere alla supplementazione grazie ad un sensore posto al livello del collare, il quale attivava la coclea di distribuzione non appena la bovina si collocava nella pedana di distribuzione.

La supplementazione distribuita era univoca per ogni animale, infatti la quantità di alimento rilasciata dalla macchina, rispecchiava le singole esigenze energetiche delle bovine.

Per mantenere la dieta isoenergetica e isoproteica durante tutta la prova, sono stati somministrati soia f.e. e grassi saponificati (Magnapac) anche durante i periodi di transizione.

La procedura di somministrazione degli integratori durante i periodi di transizione (7 giorni) non prevedeva la cattura degli animali, come avveniva durante i periodi di sperimentazione, ma si operava l'aggiunta di

quantità prestabilite di soia f.e. e Magnapac (quantità riportate nella tabella 233), direttamente all'interno del carro miscelatore. In questo modo l'unifeed veniva scaricato contemporaneamente all'integrazione.

Non venendo somministrata nessun livello di tesi durante il periodo di transizione, le quantità di integratore per ogni box risultavano le medesime.

La tabella 3.3 riporta le quantità, espresse in grammi, di soia f.e. e Magnapac durante i periodi di transizione.

Tabella 3.3 Integratori somministrati durante i periodi di transizione

	Box 5	Box 6	Box 7
Quantità lino estruso (gr)	0	0	0
Quantità soia f.e. (gr)	2970	2970	2970
Quantità grassi saponificati (gr)	2334	2334	2334

### 3.4 Caratteristiche delle bovine in prova

Nella sperimentazione furono utilizzate 18 bovine in lattazione di razza Bruna e Frisona (tabella 3.4a) opportunamente selezionate secondo criteri prestabiliti: produzione di latte, l'ordine di parto, stadio di lattazione e BCS.

Una seconda selezione permise di dividere gli animali in 3 gruppi omogenei per le caratteristiche sopraesposte (tabella 3.4b).

Tabella 3.4a Caratteristiche bovine

ID	Box	Razza*	Ordine p.	DIM**	Produzione (Kg/d)	BCS***
74	7	FI	3	102	42	2,75
128	7	FI	1	85	25,6	2,75
97	7	FI	1	86	27,4	2,25
87	7	B	2	115	39,3	3
121	7	FI	1	62	29	3
107	7	FI	2	124	36,5	2,75
130	6	FI	1	92	29,6	2,75
119	6	FI	1	142	33,1	2,5
114	6	FI	1	163	28,8	3
96	6	FI	2	100	30,3	2,75
76	6	B	3	154	29,4	3,25
126	6	FI	1	67	24,8	3
117	5	FI	1	250	32,1	3
131	5	FI	1	55	22,4	3,5
125	5	FI	1	123	25,7	3
56	5	FI	4	76	34,6	2,75
127	5	FI	1	66	35,4	2,75
77	5	B	2	79	29,4	3

\*Razza: FI(Frisona Italiana), Br(Bruna)

\*\*DIM: Days in milk

\*\*\*BCS: Body Condition Score

Tabella 3.4b **Caratteristiche per box**

Box	Ordine parto	DIM*	Produzione latte	BCS*
5	Media	108,2	29,9	3
	Ds	73,3	5,1	0,3
	Max	250	35,4	3,5
	Min	55	22,4	2,75
6	Media	119,7	29,3	2,9
	Ds	38,7	2,7	0,3
	Max	163	33,1	3,25
	Min	67	24,8	2,5
7	Media	95,6	33,3	2,8
	Ds	22,6	6,8	0,13
	Max	124	42	3
	Min	62	25,6	2,75

\*DIM: Days in milk

\*\*BCS: Body Condition Score

### 3.5 Composizione dieta di base

La dieta di base era composta dalla classica miscela dell'unifeed aziendale, al suo interno si rinvenivano alimenti quali: fieno di prato stabile, fieno di medica, polpe di bietola, mais, orzo, soia f.e, crusca, acqua, silomais, magnapac e QIC (tabella 3.5).

Tabella 3.5 **Formulazione del carro unifeed (quantità dei singoli ingredienti espressi per capo al giorno e corrispondenti ad una "dose")**

Ingredienti	Quantità (kg/capo/d)
Fieno di prato stabile	3,2
Medica di fieno	1,4
Polpe	1,8
Mais	1,0
Orzo	0,8
Soia f.e.	1,8
Crusca	2,5
Acqua	6,0
Silomais	20
Magnapac	0.67
Integratore vitaminico minerale*	0.67

\*Integrazione per kg: vit. A 240000 UI, vit. E (a-Tocof.91%) 500mg, vit. B1 80mg, vit. B12 0,4mg, vit. PP 2040mg, Manganese 650mg, Rame (solf.rameico pent.) 100mg, Cobalto (carb. Basico di 0,4 cobalto monoid.) 12mg.

### 3.6 Controlli sperimentali

Durante la prova vennero effettuati dei rilievi sperimentali atti ad evidenziare possibili influenze sugli animali derivanti dall'assunzione delle integrazioni a base di lino.

Inizialmente sono stati campionati gli alimenti che costituivano le integrazioni (soia f.e., lino estruso e Magnapac), questa tipologia di rilevazioni venne ripetuta anche a sperimentazione conclusa .

Oltre al rilevamento dei campioni dietetici, vennero effettuati con scadenze ben precise, anche i prelievi di latte, liquido ruminale e sangue.

#### 3.6.1 Controlli sperimentali: Alimenti (dieta di base e integratori)

All'inizio della prova, il 26 ottobre 2009, vennero prelevati i campioni degli alimenti che componevano le integrazioni delle tesse: lino, soia f.e. e grassi saponificati (Magnapac).

La medesima operazione venne espletata a prova conclusa, il 2 gennaio 2010, prelevando inoltre un campione per ogni alimento presente all'interno dell'unifeed aziendale.

### 3.6.2 Controlli sperimentali: Latte

La quantità di latte prodotta da ogni singolo animale, veniva registrata giornalmente grazie al sistema automatizzato presente in sala mungitura. Tale sistema era collegato telematicamente al collare di ogni animale, il quale, passando attraverso delle apposite porte di lettura, veniva istantaneamente registrato su un computer.

I dati relativi alla quantità di latte prodotta, venivano rilevati durante la mungitura del mattino (ore 5.30) e quella della sera (ore 17.30).

A giorni prestabiliti, esattamente al 7° ed al 13° giorno dei periodi di somministrazione (un periodo era composto da 14 giorni), venivano prelevati dei campioni univoci per ogni animale.

Il campionamento del latte veniva svolto solamente alla mattina, trascurando per motivi organizzativi, il latte della sera.

La metodologia di raccolta prevedeva per ogni animale l'utilizzo di:

- tre recipienti della capacità di 1L ciascuno, per micocaseificazione e per la microcaseificazione; da questo volume veniva prelevata la quantità di latte utile per il profilo lattodinamografico (LDG).
- una provetta da 50ml tipo falcon senza conservante, per il profilo acidico.
- una provetta da 50ml con conservante (Bronopol tecnico – 2 bromo, 2 nitro, 1-3 propandiolo in quantità pari a 0,02 g/100 ml latte), per le analisi qualitative del latte.
- una provetta da 50ml senza conservante, per l'urea.

Due dei tre recipienti con capacità da un litro, venivano successivamente utilizzati per la micocaseificazione mentre il rimanente serviva per la microcaseificazione.

La conservazione dei suddetti campioni prevedeva lo stoccaggio in celle frigo alla temperatura di 4°C.

La provetta da 50ml, tipo falcon, sprovvista di conservante, serviva per il campionamento del latte utile per l'esame del profilo acidico. La conservazione di questa tipologia di campione, veniva effettuata tramite congelamento a -18°C.

La provetta da 50 ml con conservante, veniva impiegata per la raccolta del campione utile all'esame qualitativo del latte mentre la provetta da 50ml senza conservante serviva per lo stoccaggio del campione utile all'esame dell'urea. Queste provette venivano prontamente trasportate presso i laboratori dell'ARAV (Associazione Regionale Allevatori Vaneti) tramite cella frigo portatile.

### 3.6.3 Controlli sperimentali: Sangue

Le procedure di prelievo del sangue venivano effettuate il 14° ed ultimo giorno di ogni periodo di prova. Tali rilevamenti si svolgevano 3 ore dopo lo scarico dell'unifeed, in modo tale d'avere una quantità di succhi gastrici digestivi adeguata al prelievo.

Ogni singolo animale, posto precedentemente in cattura, veniva sottoposto prima al prelievo ematico e successivamente al prelievo del liquido ruminale.

Per effettuare il prelievo ematico l'operatore si serviva di una provetta Vacutainer contenente Litio-Eparina (tappo verde) innestata su un'apposita camicia. Il prelievo veniva effettuato a livello della vena giugulare esterna, in corrispondenza del secondo segmento prossimale della doccia giugulare.

Una volta terminati i prelievi sui 18 soggetti, i campioni ottenuti venivano trasferiti allo Zooprofilattico delle Venezie (Legnaro, Padova) per un esame metabolico standard comprensivo dei NEFA.

#### 3.6.4 Controlli sperimentali: Liquido ruminale

Il prelievo del liquido ruminale avveniva nelle medesime condizioni del prelievo ematico, agli animali posti in cattura veniva collocata una sonda esofagea, connessa ad una beuta avente capacità pari a 3L, la quale a sua volta, veniva collegata ad una pompa a vuoto.

La quantità di liquido prelevata ad ogni animale corrispondeva a 300cc, tale volume veniva sottoposto prontamente ad un'operazione di filtraggio utile ad eliminare la componente particolata.

Una volta terminata la filtrazione, il filtrato veniva collocato all'interno di provette tipo Falcon da 50ml e trasportato ai laboratori del Dipartimento di Scienze Animali per la misurazione del pH e della temperatura.

Una volta terminate queste procedure, per ogni campione di liquido ruminale prelevato, venivano costituite due provette da 10ml ciascuna, contenenti 5ml di liquido ruminale e 1ml di Acido metafosforico 20%. Le provette costituite contenenti la nuova soluzione, vennero stoccate a -18°C.

#### 3.6.5 Controlli sperimentali: Consumi

Durante lo svolgimento della sperimentazione, sono stati rilevati i consumi giornalieri di alimento.

Il rilievo sperimentale prevedeva la raccolta e la pesa del residuo presente sul fronte mangiatoia, tale residuo veniva poi sottratto alla quantità di unifeed scaricato il giorno precedente.

Inoltre nel calcolo dei consumi giornalieri, rientravano anche le quantità di alimento che componevano le 3 tesi e quelle della supplementazione gestita telematicamente dalla mangiatoia automatica.

#### 3.7 Analisi chimiche

Le analisi chimiche vennero svolte sui campioni ricavati dalla dieta di base, dal latte, dal liquido ruminale, dal sangue e dagli integratori somministrati.

I paragrafi successivi descrivono dettagliatamente la tipologia delle analisi per ogni categoria di campione prelevato.

### 3.7.1 Analisi chimiche: Dieta di base e integratori

Per ogni singolo costituente della dieta di base vennero svolte le analisi di cartellino (analisi tipo e analisi Weende), la determinazione delle diverse frazioni fibrose tramite la metodica analitica Van Soest (1991) e per quanto riguardava la frazione della dieta di base composta dai concentrati (mais, crusca, soia f.e., orzo), venne eseguita anche la rilevazione dell'amido attraverso l'utilizzo della tecnica HPCL (High Pressure Chromatography Liquid).

In particolare, presso i laboratori del Dipartimento di Scienze Animali vennero effettuati i seguenti rilevamenti attraverso le metodiche sotto elencate:

- 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)

Oltre alle analisi sopra descritte, per ogni costituente della dieta di base e per ogni singolo integratore venne svolta la ricerca del profilo acidico previa estrazione degli acidi grassi tramite metodica ASE (accelerated solvent extraction).

La tecnica ASE sfrutta l'azione di particolari miscele di solventi che ad alte temperature e a determinate pressioni, rendono più veloce l'estrazione degli acidi grassi.

Per ogni campione di alimento venne prelevato 1g di materiale e miscelato con 2,2gr di sabbia di diatomea, il tutto poi veniva inserito in apposite celle cilindriche di acciaio aventi un volume pari a 10ml in cui nella parte superiore si rinveniva un foro dove, grazie all'ausilio di un'apposita macchina (DioNex ASE 350), veniva immesso il solvente che in questo specifico caso era etere di petrolio, mentre nella porzione inferiore si collocava il foro che permetteva l'uscita del materiale estratto.

Oltre ad immettere il sopraccitato solvente, lo strumento riscaldava ad una temperatura pari a 120°C le celle, accoppiando così l'azione dell'etere a quella del calore in modo tale da permettere così una più celere estrazione.

Mano a mano che il prodotto dell'estrazione fuoriusciva dalle celle veniva raccolto all'interno di apposite vials, il cui contenuto, una volta terminata tale procedura, subiva un trattamento di essiccazione tramite flusso di azoto riscaldato a 65°C. Tale trattamento permetteva l'evaporazione del solvente lasciando sul fondo della vial solamente la quantità di grasso estratta dal campione.

Dal grasso estratto si prelevavano 40mg di materiale, i quali venivano miscelati con 150µl di NaMetOH (Sodio metossido); questa procedura risultava indispensabile per causare l'esterificazione degli acidi grassi legati alle molecole di glicerina e per rendere ancora più marcata l'azione del NaMetOH si ponevano le provette in agitazione per 15 minuti. Per evitare l'eccessiva formazione di sali causata dalla basicità della soluzione sopraccitata, si aggiungevano 300µl di Soluzione Terminale utile a preservare la quantità di acidi grassi esterificati.

A questo punto si sottoponevano le provette ad un ciclo di centrifugazione (12000rpm per 5 minuti) necessario per far depositare i sali ed ottenere così una soluzione il più possibile pulita.

L'ultimo passaggio prevedeva il prelievo di 1,8ml di soluzione che venivano posti all'interno di apposite vials da 2ml con tappo a chiusura ermetica; le vials venivano poi caricate in un gascromatografo per la lettura del profilo acidico.

### 3.7.2 Analisi chimiche: Latte

I campioni raccolti vennero utilizzati per il controllo latte qualità, per l'analisi qualitativa e quantitativa degli acidi grassi e per l'attitudine casearia del latte.

L'analisi del latte qualità venne eseguita presso i laboratori ARAV e prevedeva la ricerca dei seguenti parametri:

- Composizione chimica:
  - o grasso: MPU FIL-IDF 141C:2000
  - o proteine: MPU FIL-IDF 141C:2000
  - o lattosio: MPU FIL-IDF 141C:2000
  - o residuo secco magro: MPU FIL-IDF 141C:2000
- Caratteristiche microbiologiche:
  - o conta delle cellule somatiche – SCC: MPU FIL-IDF 148 A:1995 met.C

Le provette destinate all'esame qualitativo e quantitativo degli acidi grassi, tipo Falcon, vennero esaminate presso i laboratori del Dipartimento di Scienza Animali.

Il procedimento di estrazione degli acidi grassi non si discostava di molto da quello descritto nel paragrafo precedente. In questo caso si utilizzavano delle celle da 22ml nelle quali venivano posti 6,6gr di sabbia di diatomea miscelati con 2ml di latte.

Il solvente utilizzato in questo caso era una miscela di etere di petrolio e isopropanolo in rapporto 2:1.

L'attitudine casearia del latte è stata esaminata tramite l'utilizzo di un apposito strumento denominato Formagraph, il quale ha rilevato i seguenti dati:

- 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

Nel profilo LDG assumono particolare interesse i parametri r, K20 e a30:

- r: tempo che intercorre dall'aggiunta del caglio alla formazione del primo flocculo (minuti)
- K20: velocità di coagulazione con relativo spurgo del siero, denominata anche sineresi (minuti)
- A30: consistenza della cagliata al tempo standard (mm)

### 3.7.3 Analisi chimiche: Sangue

Le analisi dei parametri ematici vennero eseguite presso i Laboratori dell'Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie (Legnaro, Padova).

I campioni furono sottoposti alla ricerca del profilo metabolico completo comprensivo dei NEFA:

- 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)

Per quanto riguarda la ricerca dei NEFA, venne utilizzato un metodo manuale (FA 115, Randox Lab., UK).

### 3.7.4 Analisi chimiche: Liquido ruminale

L'analisi chimica dei campioni di liquido ruminale venne svolta presso i laboratori del Dipartimento di Scienze Animali di Agripolis.

Le indagini di laboratorio prevedevano la ricerca dell'NH<sub>3</sub> (Azoto ammoniacale) e degli AGV.

Per quanto riguarda la ricerca dell'NH<sub>3</sub>, la procedura prevedeva lo scongelamento delle provette da 10ml e l'utilizzo della metodologia indicata da Martillotti (CNR-IPRA Q.8/1987 met 4.4).

Tale metodica si serve di uno strumento adatto a rilevare la differenza di potenziale (mV) all'interno di una soluzione.

La strumentazione, composta da un sensore ad immersione, venne opportunamente calibrata all'inizio della prova e ripetuta ogni 5 misurazioni. La calibrazione prevedeva l'immersione del sensore all'interno di una beuta da 50ml, contenente 20ml di soluzione A e 1ml di Soda Caustica 40%. Il tutto veniva posto sopra una piastra magnetica per permetterne l'agitazione.

La soluzione A venne costituita prelevando 1ml di Soluzione Madre (mg 1000 di N per 1000ml di H<sub>2</sub>O, 1,91g di Ammonio Cloruro per 500ml di H<sub>2</sub>O) e portando a volume con acqua distillata una beuta da 100ml.

Si prelevò, per ogni campione, 2ml di soluzione (liquido ruminale e acido meta fosforico 20%) e successivamente si diluì il volume prelevato con 18 ml di acqua distillata; il tutto venne posto all'interno di una beuta da 50ml.

Alla beuta contenente la soluzione diluita, veniva aggiunto 1ml di Soda Caustica 40% solamente dopo il posizionamento dell'elettrodo e l'accensione della piastra magnetica utile all'agitazione del campione.

Lo strumento visualizzava sul display un valore espresso in mV, tale valore seguiva un andamento prima decrescente e poi crescente; nel momento di viraggio si registrava il dato che successivamente veniva convertito in mg/l tramite la seguente formula:

$$(2,306-0,04169 \cdot \text{mV di viraggio})^{\text{diluizione}}$$
$$\text{Diluizione} = [(18+2)/2] \cdot [(5+1)/5]$$

Il fattore  $[(18+2)/2]$  rappresenta la diluizione sulla beuta da 50 ml, dove 18 sono gli ml di acqua distillata e 2 gli ml prelevati dalla provetta.

Il secondo fattore,  $[(5+1)/5]$ , rappresenta invece la diluizione sulla provetta, contenente 5ml di liquido ruminale e 1ml di acido meta fosforico al 20%.

La ricerca degli AGV avvenne previo scongelamento a temperatura ambiente. Una volta scongelato, il contenuto di ogni provetta venne sottoposto a centrifugazione (4000giri/min per 10min.), terminata questa operazione il surnatante veniva prelevato tramite una siringa da 5ml e filtrato.

Il filtrato ottenuto veniva stoccato in apposite vials da 2ml con tappo sigillato; le vials così costituite vennero inserite nel gascromatografo per la lettura del profilo acidico.

### 3.8 Caseificazione

Il latte raccolto all'interno dei tre recipienti da 1l ciascuno, venne utilizzato per la caseificazione.

Due litri di questo latte furono impiegati per la minicaseificazione, che venne svolta presso il minicaseificio sito all'interno dell'Azienda sperimentale "L. Toniolo".

Per quanto riguarda la microcaseificazione, il procedimento si svolgeva presso i laboratori di Scienze Animali dell'Università di Padova.

#### 3.8.1 Minicaseificazione

La tecnica utilizzata per lo svolgimento della minicaseificazione, seguì le direttive tecnologiche per la produzione del formaggio Fontal.

Il latte prelevato, che giungeva in minicaseificio non più tardi delle 3 ore post mungitura, non subiva alcun trattamento termico o tecnologico.

I campioni, separati in tre differenti gruppi (L0, L500 e L1000), venivano riversati in contenitori della capienza di 15l ciascuno in modo tale da ottenere una miscela rappresentativa del singolo box; anche in questo caso si effettuavano i prelievi descritti nel paragrafo 3.6.2 *Controlli sperimentali: latte*, in modo tale da poter analizzare il latte del singolo box.

Terminata questa operazione, il latte veniva riversato in 4 caldaie della capienza di 10 L (Pierre Guerin technologies) connesse ad un particolare sensore ad infrarossi, CoAguLite, in grado di individuare l'esatto momento di taglio della cagliata.

Nelle prime tre caldaie venne collocato il latte rappresentativo di ciascun box mentre la quarta caldaia veniva occupata da un'ulteriore miscela di latte composta dalle rimanenze delle tre categorie.

Il latte veniva riscaldato ad una temperatura di 30°C e lasciato riposare per almeno 30 minuti, dopo di che si procedeva con l'aggiunta dello starter liofilizzato in quantità pari a 2g per caldaia (2g/10l).

Passati 45 minuti, tempo necessario per l'incubazione dello starter, si aggiungeva il caglio liquido alla dose di 4ml/10l di latte.

Il caglio in questione era composto da: un estratto enzimatico di abomasi di vitello, sodio cloruro, E211 (sodio benzoato), chimosina e pepsina bovina.

Grazie all'ausilio della tecnologia Coagulate, brevemente descritta in precedenza, si individuò il momento ideale per il primo taglio della cagliata, a cui ne seguirono altri tre per un totale di quattro tagli.

In corrispondenza del terzo taglio i bagni termostati vennero settati ad una temperatura di 39°C in previsione della cottura.

Dopo l'ultimo taglio vennero prelevati 3 litri di siero ed aggiunti 3 litri di acqua ad una temperatura di 55°C, tale da portare la massa a 38-39°C. Il tutto venne agitato per 5 minuti, poi il siero venne totalmente scaricato dalle singole caldaie e la cagliata fatta riposare per 15 minuti (al 7° minuto è stato eseguito un taglio a croce allo scopo di favorire la totale fuoriuscita del siero).

Terminate queste operazioni, la cagliata venne posta su tre fascere in modo tale da ottenere 3 formelle per ogni caldaia (formella A, B, C).

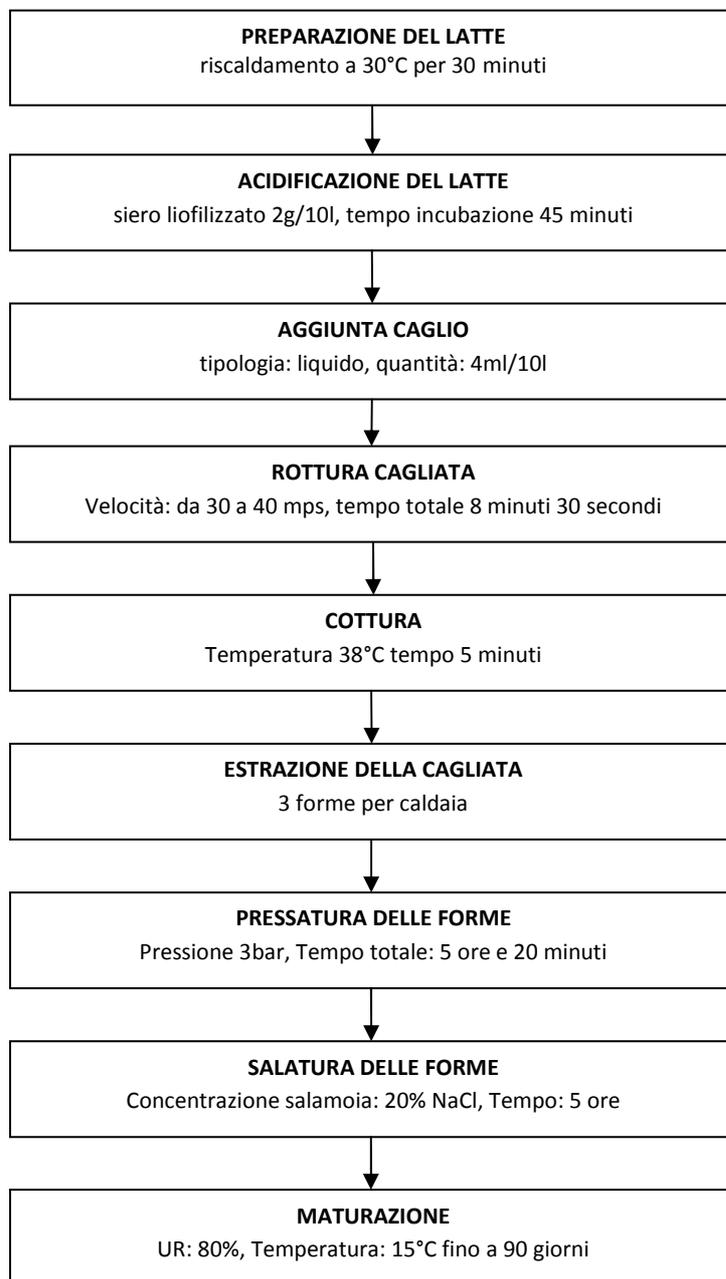
Le forme vennero poi sottoposte a tre cicli di pressatura (3 bar):

- pressatura per venti minuti e rilevazione del peso
- pressatura per 2 ore e rilevazione del peso
- pressatura per 3 ore e rilevazione del peso

Terminati i cicli di pressatura le forme vennero poste in salamoia al 20%NaCl per 5 ore per poi essere nuovamente pesate e collocate in un maturatore settato ad una temperatura di 15°C e con un valore di umidità relativa dell'80%.

La pesa delle formelle continuò con una scadenza prestabilita che prevedeva un rilevamento al 7°, 14°, 30°, 45°, 60°, 75° e al 90° giorno.

Il diagramma di flusso sottostante elenca passo dopo passo le procedure svolte:



### 3.8.2 Analisi sul formaggio

Come accennato nel paragrafo precedente, i formaggi venivano pesati al 7°, 14°, 30°, 45°, 60°, 75° e al 90° giorno.

Questa procedura serviva a rilevare la resa di ogni formella, in modo tale da indagare un eventuale impatto dei vari livelli di dieta su tale parametro.

La resa rappresenta la quantità di materiale utile (cagliata o formaggio) ottenuta per unità di latte caseificato, essa è soggetta ad una diminuzione durante la stagionatura ed è condizionata da una serie di processi fisici e metabolici che andranno a modificarne la percentuale.

Inoltre, ogni formella, al raggiungimento del 30°, 60° e 90° giorno di maturazione veniva sottoposta, dopo essere stata sezionata trasversalmente, alla misurazione del pH, della temperatura e al rilevamento dei principali parametri chimici (percentuale di umidità, di grasso, di sale, di proteine e di solidi totali);

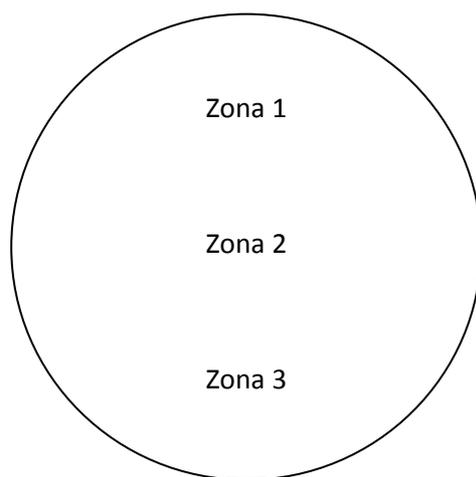
Per la misurazione del pH e della temperatura si scelsero tre differenti zone di misurazione; il pHmetro utilizzato era un Crison PH 25 dotato di un elettrodo 5232.

I principali parametri chimici furono estrapolati tramite l'ausilio di uno strumento denominato FoodScan (Foss), che si serve della tecnologia NIR (near infrared reflectance) in grado di differenziare i vari componenti in base alle tipologie dei legami chimici presenti al loro interno.

I legami più comuni sono O-H per l'acqua e gli alcoli, il C-H per gli oli, per i grassi e per molti composti organici e N-H per le proteine.

Le forme in questione, per essere esaminate correttamente, vennero in precedenza triturate tramite un ciclo di macinazione. La figura 3.8.1b riporta le zone considerate per le rilevazioni sopra esposte.

Figura 3.8.1b - **Sezione trasversale di una formella e relative zone di rilevamento del pH e della temperatura.**



Le forme che giungevano al 90° giorno di maturazione, andavano incontro a tutte le procedura sopra esposte, con l'eccezione che una metà di queste veniva stoccata in cella frigo. Queste metà poi vennero utilizzate per l'ottenimento del profilo acidico.

Nei paragrafi precedenti (3.7 *Analisi chimiche*) è stato descritto approfonditamente il procedimento utilizzato per l'estrazione degli acidi grassi sul latte e sui mangimi, in questo caso la tecnica è del tutto simile alle precedenti con la differenza che il solvente utilizzato per l'estrazione era una miscela di esano e isopropanolo in rapporto 3:2. Le celle utilizzate erano le medesime impiegate per l'esame del profilo acidico del latte, ossia quelle con il volume pari a 22ml.

### 3.9Elaborazione dei dati statistici

Per quanto riguarda gli animali di uno stesso box, tutti i dati utilizzati per l'elaborazione statistica sono stati preliminarmente sottoposti al calcolo delle medie aritmetiche.

Nel caso di dati giornalieri (produzioni di latte e ingestione) è stata effettuata la media entro periodo di prova.

Nel caso dei prelievi di latte (qualità e profilo acidico) e delle caseificazioni è stata effettuata la media dei due prelievi entro periodo.

Complessivamente quindi per tutte le variabili sono stati considerati 9 records (3 tesi per 3 periodi per 3 box).

Il modello con il quale sono stati elaborati tutti i dati, ha considerato l'effetto della tesi sperimentale (3 livelli: L0, L500 e L1000) e del periodo (3 livelli: periodo 1, 2, 3).

I 2 gradi di libertà dell'effetto tesi sperimentale sono stati scomposti nei confronti ortogonali: L0 vs (L500+L1000) e L500 vs L1000.



## 4.RISULTATI E DISCUSSIONE

### 4.1 Stato sanitario delle bovine durante la prova

Durante la prova sono stati monitorati alcuni importanti aspetti di natura sanitaria utili ad evidenziare possibili ripercussioni derivanti dall'utilizzo del supplemento dietetico.

In particolare, sono state esaminate le funzionalità riguardanti l'apparato respiratorio, l'apparato gastroenterico (es. diarrea e turbe digestivo-metaboliche), l'apparato uro-genitale (es. mastiti e ipofertilità) e altre problematiche quali zoppie derivanti da laminiti.

Durante tutto l'arco della prova su campo, non si sono registrati avvenimenti di natura patologica collegabili alla nuova dieta; si registrano solamente un episodio di mastite su un soggetto recidivo alla patologia ed una lieve forma influenzale, accompagnata da una blanda sintomatologia respiratoria, che ha interessato tutti gli animali presenti nella stalla, anche quelli esclusi dalla sperimentazione.

Entrambi gli episodi sono stati trattati seguendo un protocollo terapeutico a base di antibiotici.

### 4.2 Caratteristiche chimiche e nutrizionali degli alimenti impiegati

La tabella 4.2a riporta l'elenco degli alimenti costitutivi dell'unifeed aziendale; tutti gli alimenti presentano un profilo chimico in linea con quanto riportato da Martillotti et al. (1996), solamente il valore di PG della crusca di frumento (8,4%ss) risulta essere inferiore al valore di riferimento (13,6%ss).

Il fieno di prato stabile e di medica risultano di buona qualità, il primo ha un contenuto di PG pari a 11,8%ss mentre il secondo 14,6%ss. Un buon livello proteico lo si riscontra anche nella soia f.e. e nel silomais, che componeva il 50% dell'intera razione, dove troviamo un valore di proteine rispettivamente pari a 48%ss e 7,2%ss.

Tabella 4.2a - **Composizione chimica dei diversi componenti delle diete unifeed (valori espressi in % sulla ss)**

ALIMENTI	SS	PG	EE	Ceneri	FG	EI
<b>fieno di prato stabile</b>	87,7	11,8	2,4	11,4	26,7	47,6
<b>fieno di medica</b>	88,4	14,6	1,8	9,9	32	41,7
<b>polpe secche di bietola</b>	89,3	9,5	0,9	7,2	19,0	63,3
<b>farina di mais</b>	87,2	8,5	3,9	1,2	2,9	83,5
<b>farina di orzo</b>	87,2	11,2	2,2	3,1	6,2	77,2
<b>crusca di frumento</b>	86	17,3	4	5,5	8,4	65,1
<b>soia f.e</b>	87,7	48,7	1,6	6,7	6,4	36,6
<b>magnapac*</b>	97,0	0,0	85,6	14,4	0,00	0,04
<b>Silomais</b>	37,5	7,2	2,6	4,3	21,7	64,3

\*Magnapac: Umidità (3,5%), Grassi (84%), Ceneri (12,5%), Calcio (9%)

L'analisi delle frazioni fibrose di ogni alimento è riportata in tabella 4.2b; anche in questo caso tutti i valori ottenuti non si discostano di molto da quelli riportati da Martillotti et al. (1996).

Il contenuto di fibra nel fieno di prato stabile è presente in una buona percentuale (NDF 56,2%ss) mentre il valore di NDF della crusca di frumento (35,4%ss) è risultato inferiore rispetto alla percentuale di riferimento (49,1%ss).

Tabella 4.2b - **Analisi dei carboidrati strutturali e non strutturali dei diversi componenti della dieta unifeed (valori espressi in % sulla ss)**

ALIMENTI	NDF	ADF	ADL	AIA	AMIDO	NSC
<b>fieno di prato stabile</b>	56,2	29	2,6	1,4		18,2
<b>fieno di medica</b>	48,5	36,2	7,5	0,9		25,2
<b>polpe di bietola</b>	47,3	25,6	3,5	2,9		35
<b>farina di mais</b>	10,4	1,8	0,0	0,0	74,1	76,
<b>farina di orzo</b>	23,2	5,9	0,3	0,0	56,2	60,2
<b>crusca di frumento</b>	35,4	10,2	1,9	0,7	28,7	38,1
<b>soia f.e</b>	13,3	6,9	0,0	0,0	5,6	29,7
<b>Magnapac</b>	0,00	0,00	0,0	0,0		0,04
<b>Silomais</b>	45,9	26,9	0,9	0,2	28,8	40,1

#### 4.3 Caratteristiche chimiche della dieta unifeed

Gli alimenti riportati nei paragrafi precedenti, rappresentavano i costituenti dell'unifeed aziendale distribuito giornalmente alle bovine. Come si può notare dalla tabella 4.3 l'apporto di EE rimane al di sotto del 7%, limite consigliato da numerosi testi di zootecnia, collocandosi ad un livello pari al 4,61%ss.

Tabella 4.3 - **Composizione chimica dell'unifeed**

Composizione chimica	%ss
SS	21,44
PG	13,16
EE	4,61
Ceneri	6,35
FG	18,12
EI	57,76
NDF	40,16
ADF	21,5
ADL	1,78
AIA	0,68
AMIDO	21,2
NSC	35,72

#### 4.4 Caratteristiche dei supplementi dietetici proteici ed energetici

Come indicato nel capitolo *Materiale e metodi*, giornalmente ad ogni singolo animale veniva somministrata, oltre all'unifeed, anche una quota di supplemento dietetico composto da lino estruso, soia f.e. e magnapac. La tabella 4.4a riporta i valori della composizione chimica riferiti ai due momenti di prelievo (26/10/2009 e 02/01/2010) ed al valore medio.

Per quanto riguarda la soia f.e. ed il magnapac utilizzati nel supplemento, sono gli stessi impiegati anche nella costituzione dell'unifeed.

Il lino estruso, prodotto commerciale della Cortal (Cittadella - Padova), presenta un valore medio di EE, PG e ceneri, rispettivamente pari a 41,2%ss, 23,8%ss e 4,1%ss risultando in linea con quanto riportato in letteratura (Martillotti et al., 1996).

**Tabella 4.4a - Composizione chimica dei supplementi dietetici: lino estruso, soia f.e. e grassi saponificati (valori espressi in % sulla ss)**

ALIMENTI	SS	PG	EE	CEN	FG	EI
<b>Primo prelievo di lino estruso</b>	94,00	23,86	41,17	4,12	5,40	25,45
<b>Secondo prelievo di lino estruso</b>	92,98	23,82	41,21	4,07	5,46	25,44
<b>Media</b>	93,49	23,84	41,19	4,09	5,43	25,45
<b>Primo prelievo di soia f.e.</b>	90,75	48,11	1,79	6,59	7,02	36,49
<b>Secondo prelievo di soia f.e.</b>	87,60	47,80	1,69	6,80	6,92	36,78
<b>Media</b>	89,17	47,96	1,74	6,69	6,97	36,64
<b>Primo prelievo di magnapac</b>	97,01	0,00	85,53	14,27	0,00	0,20
<b>Secondo prelievo Di magnapac</b>	97,02	0,00	85,10	14,86	0,00	0,04
<b>Media</b>	97,02	0,00	85,32	14,57	0,00	0,12

Anche dall'analisi dei carboidrati strutturali e non strutturali (tabella 4.4b), si evince che non vi sono parametri che si discostano di molto da quelli di riferimento (Martillotti et al., 1996).

**Tabella 4.4b - Analisi dei carboidrati strutturali e non strutturali dei supplementi dietetici: lino estruso, soia f.e. e grassi saponificati (valori espressi in % sulla ss)**

ALIMENTI	NDF	ADF	ADL LORDO AIA	AIA	NSC
<b>Primo prelievo di lino estruso</b>	13,56	6,32	1,61	0,15	17,29
<b>Secondo prelievo di lino estruso</b>	15,26	6,85	1,78	0,19	15,65
<b>Media</b>	14,41	6,58	1,69	0,17	16,47
<b>Primo prelievo di soia f.e.</b>	12,78	6,71	0,00	0,00	30,73
<b>Secondo prelievo di soia f.e.</b>	12,93	6,49	0,00	0,00	30,78
<b>Media</b>	12,86	6,60	0,00	0,00	30,75
<b>Primo prelievo di magnapac</b>	0,00	0,00	0,00	0,00	0,20
<b>Secondo prelievo Di magnapac</b>	0,00	0,00	0,00	0,00	0,04
<b>Media</b>	0,00	0,00	0,00	0,00	0,12

Tabella 4.4c – **Profilo acido degli supplementi: lino estruso, soia f.e e Magnapac**

	<b>C16:0</b>	<b>C18:0</b>	<b>C18:1</b>	<b>C18:2</b>	<b>C18:3</b>
<b>Lino estruso</b>	6	6,5	20	18,2	47,5
<b>Soia f.e.</b>	14,27	3,71	17,51	53,9	10,57
<b>Magnapac</b>	44	5	40	9,5	0,1

#### 4.5 Ingestione alimentare delle bovine in prova

L'ingestione giornaliera è stata calcolata sottraendo il residuo di mangiatoia al totale di unifeed scaricato per ogni box. Inoltre, vennero considerate anche la quantità di alimento rilasciata dall'autoalimentatore (vedi *Materiale e metodi*: 3.3 Procedure di somministrazione) e quella della dieta sperimentale (L0, L500, L1000).

L'ingestione media giornaliera è risultata 18,9Kg/d ss, dunque un valore che rientra nella norma per questa tipologia di animali, infatti vacche in lattazione con una produzione media giornaliera pari a 20-30Kg, necessitano di un apporto di sostanza secca di 20-21Kg/d (Bittante et al, 2010).

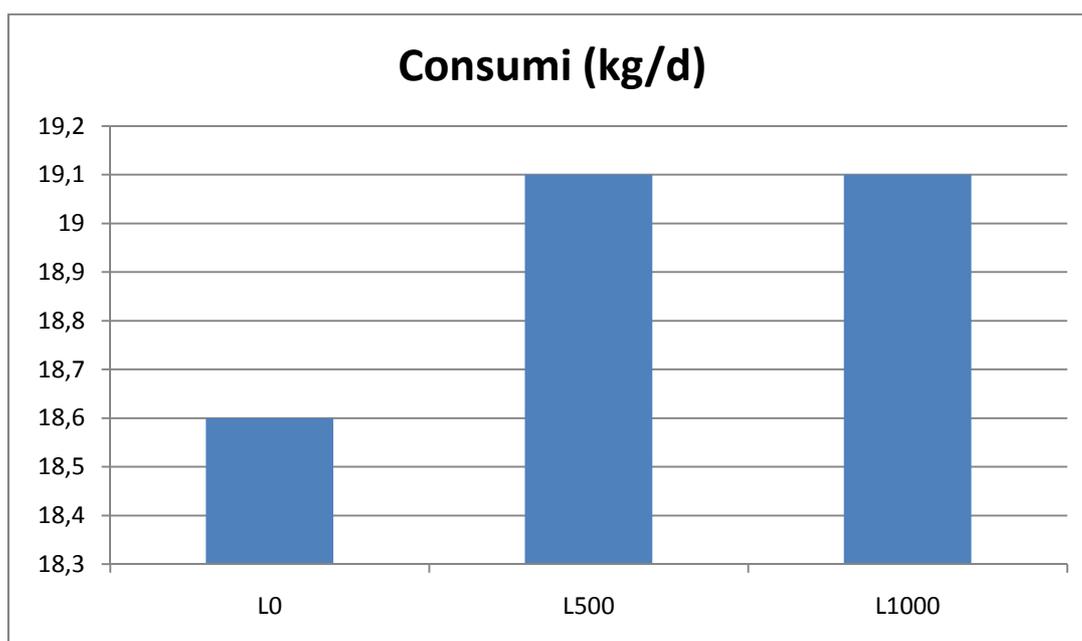
Osservando la tabella 4.5, non si denota nessun indice che abbia una rilevanza statistica, questo ci spinge a pensare che le tre tesi non hanno avuto ripercussioni di nessun tipo sull'ingestione di ss.

Ad un rapido sguardo al grafico 4.5, si può osservare come la tesi L0 abbia avuto il valore di ingestione minore, ma come già estrapolato dai calcoli statistici, questa diminuzione non è risultata significativa.

Tabella 4.5 - **Analisi della varianza dell'ingestione di alimento (Kg/d)**

	<b>G.L.</b>	<b>Ingestione (Kg/d)</b>
<b>TESI</b>	2	0,63
<b>PERIODO</b>	2	3,69
<b>ERRORE</b>	4	2,84

Grafico 4.5 – **Medie stimate dell'effetto tesi sull'ingestione di sostanza secca**



#### 4.6 Produzione di latte

Un aspetto fondamentale della prova, fu la necessità di individuare possibili variazioni della produzione di latte indotte dall'uso della supplementazione a base di lino.

Il valore medio di produzione ottenuto corrisponde a 29,5 Kg/d, quantità che denota un buon andamento produttivo e che si colloca all'interno dei valori di riferimento (Bittante et al, 2010).

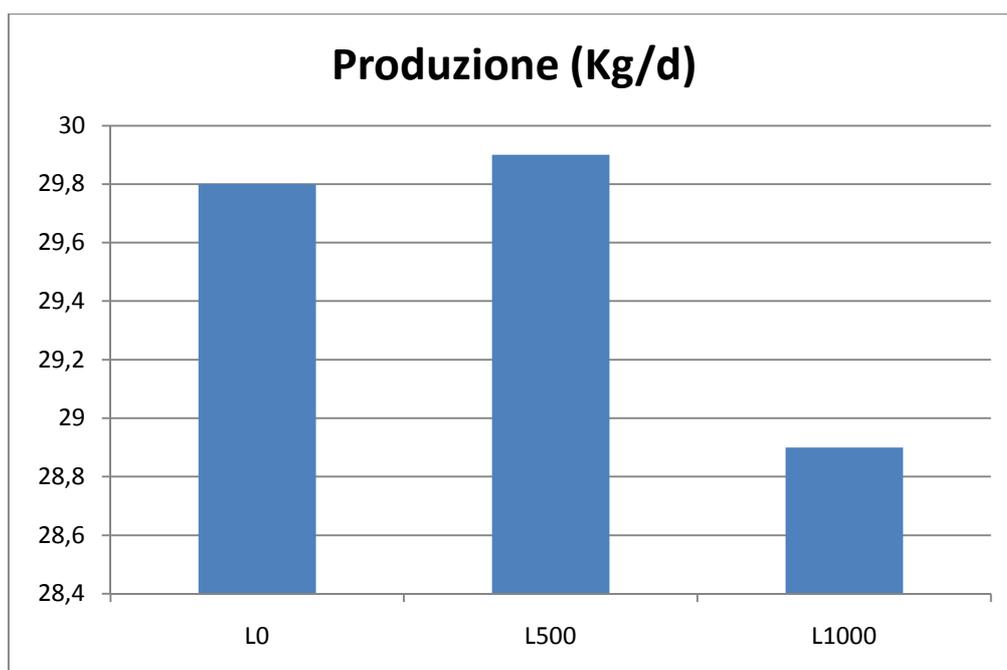
Anche in questo caso, ne la tesi ne il periodo hanno inciso sulla quantità di latte prodotto; osservando i valori medi riferiti alle tre tesi L0 (29,8Kg/d), L500 (29,9Kg/d) e L1000 (28,9Kg/d) si nota come vi sia un leggero decremento della quantità di latte prodotta riferita alla tesi L1000, ciò rappresenta comunque un valore privo di significatività statistica.

I valori di produzione media giornaliera sono riportati nel grafico 4.6.

Tabella 4.6 – **Analisi della varianza della produzione di latte (Kg/d)**

	G.L.	Produzione (Kg/d)
<b>TESI</b>	2	1,73
<b>PERIODO</b>	2	1,21
<b>ERRORE</b>	4	53,13

Grafico 4.6 – **Medie stimate dell'effetto tesi sulla produzione di latte giornaliera**



#### 4.7 Qualità del latte

Le analisi della qualità del latte sono state effettuate sia sul latte prelevato individualmente da ogni animale, sia su quello rappresentante la miscela del latte proveniente dai sei animali che componevano i tre box.

#### 4.7.1 Qualità del latte (prelievi individuali)

Tutti i parametri qualitativi del latte individuale, riportati in tabella 4.7.1b, sono risultati nella norma; il valore medio delle proteine (3,4%) e quello del grasso (3,5%) non denotano particolari variazioni riconducibili a squilibri dietetici.

Solamente la percentuale di grasso presenta una significatività statistica se correlata al periodo di prova, infatti il primo periodo presenta un valore di grasso pari a 3,75%, il secondo 3,24% ed il terzo 3,53%; tuttavia, viste le modeste variazioni, non vi sono indicazioni che possono imputare alla prova sperimentale qualche variazione del contenuto di grasso nel latte.

E' doveroso ricordare che la presenza del grasso nel latte è fortemente condizionata da numerosi fattori (vedi *Introduzione*: 1.1.3Acidi grassi) quali: ereditabilità, tipologia di stabulazione, clima, tecnica di mungitura, stato sanitario e alimentazione.

Il grafico 4.7.1a riporta i valori medi della percentuale di grasso rispetto ai tre periodi di sperimentazione.

Per quanto riguarda l'urea, la concentrazione media è risultata 24,5 g/l, valore leggermente inferiore a quello di riferimento (soglie minime: 28 g/l e 32 g/l per latte alta qualità)(Giussani, 2005). Un valore di urea inferiore ai 25 g/l denota una carenza di azoto degradabile ed un eccesso di energia fermentescibile nella razione, se consideriamo anche la percentuale media di proteine (3,4%), secondo lo schema proposto da Dirksen (tabella 4.7.1a), è probabile che nella razione vi sia un eccesso di energia:

Tabella 4.7.1a – **Stima dello stato della nutrizione azotata ed energetica in funzione di proteine ed urea nel latte (Dirksen)**

Proteine del latte (%)	Urea del latte (g/l)	Interpretazione dello stato nutrizionale
<3,00	<20	Carenza di energia + proteine
	20-35	Carenza di energia
	>35	Carenza di energia + eccesso di proteine
3,00-3,30	<20	Carenza di proteine
	20-35	Razione equilibrata
	>35	Eccesso di proteine
>3,30	<20	Eccesso di energia + carenza di proteine
	20-35	Eccesso di energia
	>35	Eccesso di energia e proteine

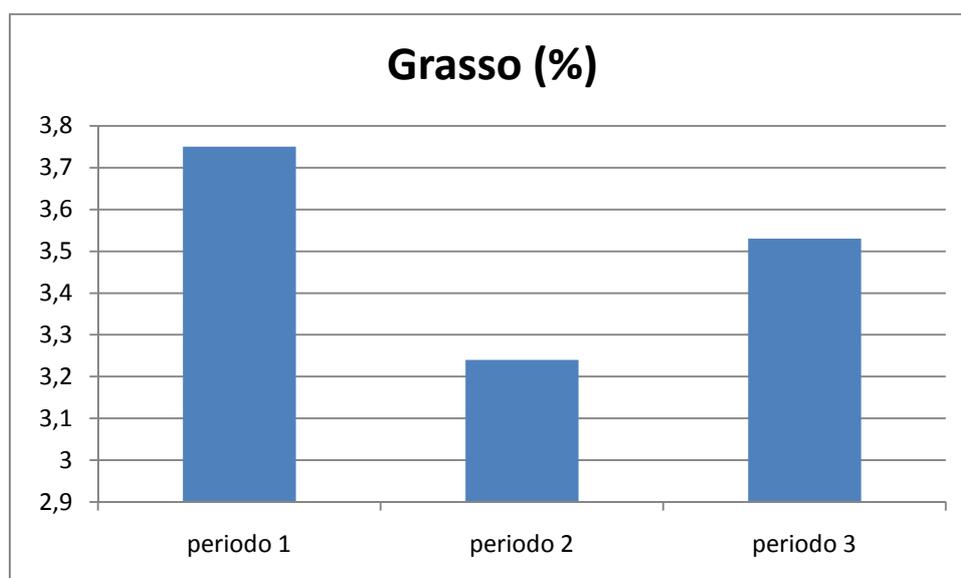
Tabella 4.7.1b – **Analisi della varianza dei parametri qualitativi del latte**

	Unità di misura	TESI	PERIODO	ERRORE
<b>G.L.</b>		2	2	4
<b>proteine</b>	%	0,03	0,02	0,03
<b>Grasso</b>	%	0,004	0,39*	0,06
<b>Cellule somatiche</b>	n./ml	10684,5	16850,8	54913,7
<b>Carica batterica</b>	num/ml	23,46	37,59	63,6
<b>Urea</b>	g/l	13,04	61,42	27,22
<b>r</b>	Min	2,80	7,23	17,63
<b>a30</b>	Min	3,71	20,06	58,4

\*: P<0,05

La tesi L500 è l'unica delle tre che presenta un livello di urea superiore alla soglia minima (26,19 g/l), questo dato può spingere a considerare la dieta con 500g/d di lino estruso quella più bilanciata dal punto di vista energetico, anche se questa considerazione non è avallata da una significatività statistica.

Grafico 4.7.1a – Medie stimate dell'effetto periodo rispetto la percentuale di grasso



#### 4.7.2Qualità del latte (miscela ottenuta da ciascun box)

Le considerazioni fatte sul latte individuale valgono anche per il latte di box (ottenuto dalla miscelazione del latte di ogni singolo animale presente nel box); ad un primo esame della tabella 4.7.2a, risulta che rispetto al periodo, il grasso e il pH presentano delle variazioni significative. Infatti si nota un aumento del pH in corrispondenza del terzo periodo (6,74) che comunque non supera il valore massimo indicato per il latte fresco (6,6-6,8)(Giussani, 2005); per quanto concerne gli altri due periodi, i valori di pH per il primo ed il secondo sono rispettivamente 6,65 e 6,64.

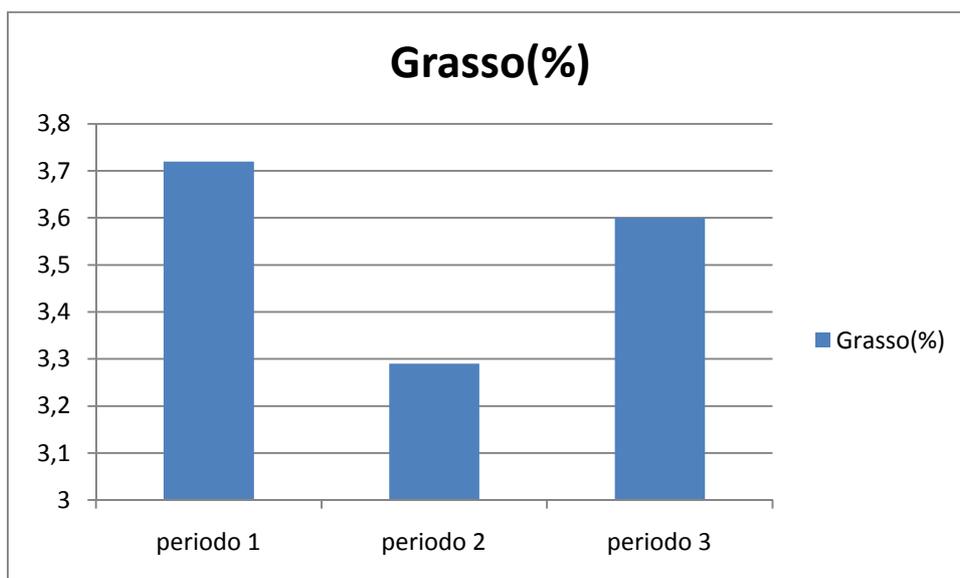
Tabella 4.7.2a – Analisi della varianza dei parametri qualitativi del latte di caldaia

	Unità di misura	TESI	PERIODO	ERRORE
<b>G.L.</b>		2	2	4
<b>proteine</b>	%	0,03	0,009	0,04
<b>grasso</b>	%	0,05	0,29*	0,08
<b>°SH</b>	°SH/50	0,05	0,12	0,55
<b>Urea</b>	g/l	14,09	62,4	28,4
<b>pH</b>		0,0003	0,02**	0,0015
<b>Cellule somatiche</b>	num/ml	13580,67	15573,5	44893,3
<b>Carica batterica</b>	num/ml	180,05	283,72	869,28
<b>r</b>	min	12,61	25,01	41,5
<b>K20</b>	min	1,39	0,45	12,46
<b>a30</b>	min	15,29	31,77	295,32

\*: P<0,05

\*\* : P<0,01

Grafico 4.7.2 – Medie stimate dell'effetto periodo sulla percentuale di grasso



#### 4.8 Profilo acido del latte

Il profilo acido del latte rientra nel novero di quei parametri che subiscono le maggiori alterazioni dal fattore alimentazione.

Uno degli scopi principali di questa prova, era quello di indagare l'effetto dieta sulla composizione acidica del latte individuale e del latte rappresentativo di ogni gruppo di bovine (un gruppo era formato da 6 soggetti).

Nei due paragrafi seguenti, vengono esposti i profili acidi completi e le relative frazioni di SFA, UFA, MUFA, PUFA,  $\Omega 3$  e  $\Omega 6$  nonché i rapporti tra SFA/UFA, MUFA/PUFA e  $\Omega 6/\Omega 3$ .

##### 4.8.1 Profilo acido del latte individuale

Il profilo acido proposto nella tabella 4.8.1a, dimostra per alcuni acidi grassi una significatività non trascurabile; i valori che attirano subito l'attenzione sono quelli relativi al C16:0, 18:3n6, 18:3n3, CLA 9c11t, dove si registra per il 18:3n3 una  $P=0,0093$ .

Ragionevolmente, l'aumento del 18:3n3 (acido grasso della serie  $\Omega 3$ ) è imputabile all'effetto dieta; volgendo l'attenzione alla tabella 4.8.1b, risulta chiaro che esiste una differenza significativa tra il livello di 18:3n3 della dieta L0 e quello relativo alla media delle altre due diete (L500 + L1000).

Un altro parametro di notevole interesse è l'andamento del C16:0, acido grasso che appartiene alla famiglia degli SFA, i quali possono rappresentare un elemento negativo per la salute del consumatore.

L'acido palmitico (C16:0) è direttamente coinvolto nel meccanismo di adesione della placca aterosclerotica, questo significa che una diminuzione del suo contenuto nel latte e nei prodotti lattiero-caseari, è auspicabile per favorire la prevenzione contro l'aterosclerosi.

Tabella 4.8.1a – Analisi della varianza del profilo acido del latte individuale

	Unità di misura	TESI	PERIODO	ERRORE
<b>G.L.</b>	%	2	2	4
<b>C4:0</b>	%	4,90	6,25	3,84
<b>C6:0</b>	%	0,85°	0,13	0,34
<b>C8:0</b>	%	0,30*	0,11	0,08
<b>C10:0</b>	%	0,20	0,14	0,23
<b>C10:1n1</b>	%	0,0016	0,007°	0,0032
<b>C11:0</b>	%	0,0003	0,002	0,002
<b>C12:0</b>	%	0,13	0,32	0,43
<b>C12:1n9</b>	%	0,00005	0,0009	0,0004
<b>C13:0</b>	%	0,0003	0,0005	0,0018
<b>C14:0</b>	%	0,18	1,34	1,87
<b>C14:1</b>	%	0,17	0,085	0,13
<b>C15:0</b>	%	0,008	0,013	0,030
<b>C15:1 cis 10</b>	%	0,00015	0,0009	0,003
<b>C16:0</b>	%	37,78*	1,52	6,7
<b>C16:1 n9</b>	%	0,0012	0,003	0,0012
<b>C16:1 n7</b>	%	0,036	0,073	0,18
<b>C17:0</b>	%	0,0005	0,0023	0,006
<b>C17:1 n9</b>	%	0,0005	0,0002	0,0008
<b>C17:1 n7</b>	%	0,00003	0,000005	0,00013
<b>C18:0</b>	%	1,88	3,23	2,84
<b>C18:1 n7t</b>	%	0,0002	0,006	0,042
<b>C18:1 cis n7</b>	%	0,67*	0,15	0,13
<b>C18:1 cis n9</b>	%	0,59	4,86	3,02
<b>C18:2 n6t</b>	%	0,02	0,013	0,03
<b>C18:2 cis n6</b>	%	0,05	0,08	0,21
<b>C18:3 n6</b>	%	0,0005*	0,0000009	0,00013
<b>C18:3 n3</b>	%	0,15**	0,02	0,016
<b>CLA 9c 11t</b>	%	0,04°	0,01	0,01
<b>CLA 10t 12c</b>	%	0,00014	0,0003	0,00035
<b>C20:0</b>	%	0,000018	0,0002	0,0004
<b>C20:1 n9</b>	%	0,00001	0,00002	0,00013
<b>C20:2 n6</b>	%	0,0000014	0,00005**	0,000005
<b>C20:3 n6cis</b>	%	0,0007	0,0001	0,0006
<b>C20:4 n6</b>	%	0,0004	0,00003	0,0016
<b>C20:5 n3cis</b>	%	0,00002	0,000008	0,00004
<b>C21:0</b>	%	0,00008	0,00007	0,000014
<b>C22:0</b>	%	0,00006	0,00005	0,0004

°: P<0,1

\*: P<0,05

\*\* : P<0,01

Grafico 4.8.1a – **Medie stimate dell’effetto tesi sulla concentrazione dell’acido palmitico**

Osservando il grafico 4.8.1a, risulta evidente la diminuzione della percentuale di C16:0 nelle diete L500 e L1000.

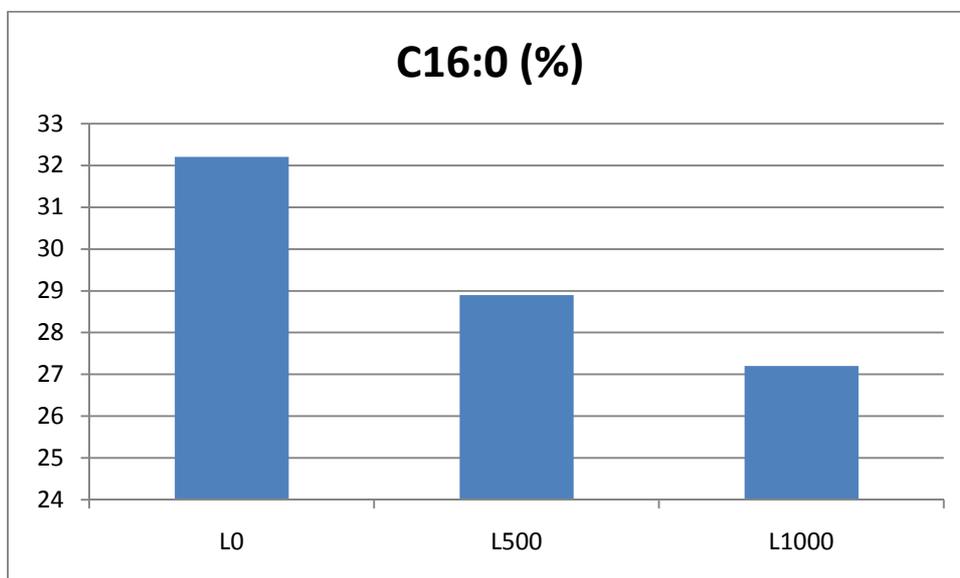


Tabella 4.8.1b – **Contrasti tra le medie di LO Vs L500 + L1000 dell’acido C16:0, 18:3n3, 18:3n6 e CLA 9c11t**

	G.L	C16:0	18:3n3	18:3n6	CLA 9c11t
<b>LO VsL500+ L1000</b>	1	33,7*	0,1**	0,00006	0,02°
<b>L500 Vs L1000</b>	1	4,1	0,01	0,0004*	0,01°

°: P<0,1

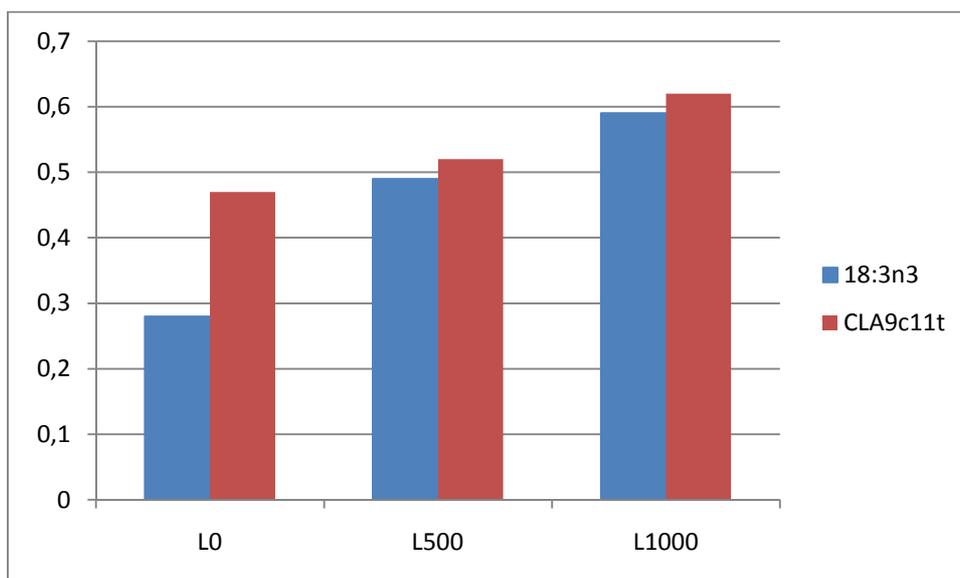
\*: P<0,05

\*\* : P<0,01

Volgendo l’attenzione alla tabella 4.8.1b, risulta evidente la modificazione della concentrazione del 18:3n3 che avviene quando l’animale assume il lino estruso mediante le diete L500 o L1000; nel grafico 4.8.1b, vengono riportati gli andamenti delle concentrazioni del 18:3n3 e del CLA 9c11t che dimostrano chiaramente le differenze tra la dieta senza lino e le due diete che lo contengono.

Un discorso a sé merita il 18:3n6, infatti dall’analisi della varianza risulta significativo l’effetto dieta non tanto tra LO e la media degli altri due livelli di tesi, ma piuttosto tra L500 e L1000. La media riferita a L500 (0,47%) risulta essere maggiore a quella di L1000 (0,30%) e addirittura a quella di LO (0,33%).

Grafico 4.8.1b - Medie stimate dell'effetto tesi rispetto alla percentuale di 18:3n3 e CLA9c11t (%)



La tabella 4.8.1c dimostra chiaramente come il rapporto  $\Omega 6/\Omega 3$  abbia subito un'influenza dall'apporto dietetico, la diminuzione può essere apprezzata nel grafico 4.8.1d dove la dieta L0 presenta il livello più alto delle tre diete.

Questo miglioramento può essere imputato all'aumento degli  $\Omega 3$  dovuto dall'assunzione del lino estruso.

Tabella 4.8.1c – Analisi della varianza del profilo acido del latte individuale

	Unità di misura	TESI	PERIODO	ERRORE
<b>G.L.</b>	%	2	2	4
<b>SFA</b>	%	2,2	6,86	1,23
<b>UFA</b>	%	1,57	6,91*	1,77
<b>MUFA</b>	%	0,79	4,59	2,2
<b>PUFA</b>	%	0,72°	0,27	0,27
<b>SFA/UFA</b>	%	0,01	0,16°	0,05
<b>MUFA/PUFA</b>	%	1,67	0,23	0,96
<b><math>\Omega 3</math></b>	%	0,15*(P=0,0106)	0,02	0,017
<b><math>\Omega 6</math></b>	%	0,09	0,16	0,1
<b><math>\Omega 6/\Omega 3</math></b>	%	37,73**(P=0,0026)	2,5	2,02

°: P<0,1

\*: P<0,05

\*\*: P<0,01

Dai contrasti proposti in tabella 4.8.1d è evidente come sia più significativo l'aumento degli  $\Omega 3$  (P<0,01) e la relativa diminuzione del rapporto  $\Omega 6/\Omega 3$  (P<0,001) passando dalla dieta L0 a L500 o a L1000.

Non risulta significativo l'aumento dell'apporto di  $\Omega 3$  che avviene tra L500 ed L1000.

Tabella 4.8.1d - **Analisi della varianza dei contrasti della percentuale di  $\Omega 3$  e del rapporto  $\Omega 3/ \Omega 6$**

	G.L.	$\Omega 3$	$\Omega 3/ \Omega 6$
<b>L0 Vs MEDIA L500+L1000</b>	1	0,14**	37,51**
<b>L500 Vs L1000</b>	1	0,01	0,22

\*\* :  $P < 0,01$

Grafico 4.8.1c – **Medie stimate dell’effetto tesi rispetto la percentuale di  $\Omega 3$**

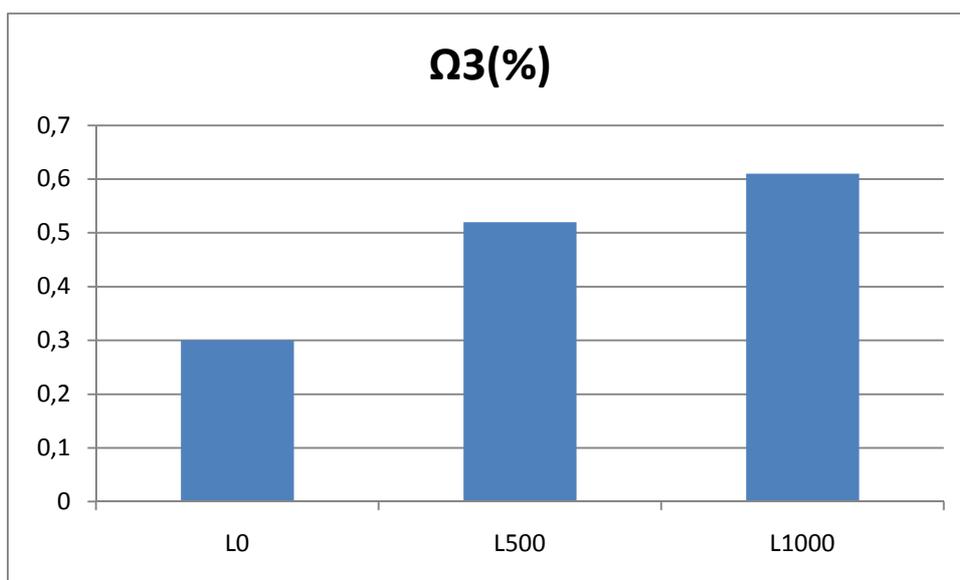
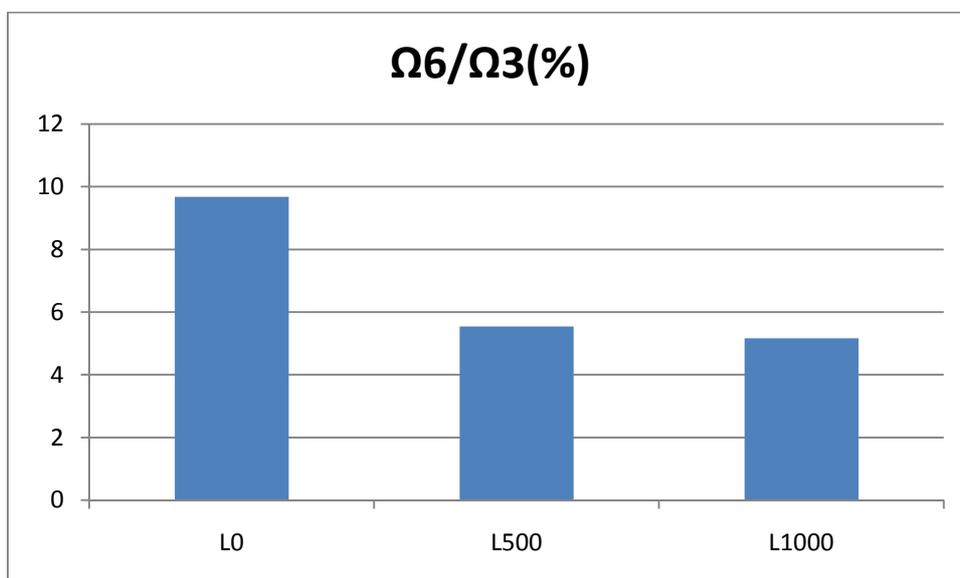


Grafico 4.8.1d – **Medie stimate dell’effetto tesi rispetto la percentuale del rapporto  $\Omega 6/ \Omega 3$**



#### 4.8.2 Profilo acido latte di caldaia

Le medesime considerazioni espone nel paragrafo inerente al latte individuale, possono essere formulate per il latte che rappresenta le 6 bovine collocate nei tre box.

L’analisi della varianza del profilo acido riportata in tabella 4.8.2a, mette subito in risalto che la concentrazione del C16:0 subisce un mutamento se correlata con l’effetto tesi ( $P < 0,001$ ). Infatti, si registra

un progressivo calo della concentrazione dell'acido palmitico passando da L0 a L500 fino a L1000 (grafico 4.8.2a).

Tabella 4.8.2a – Analisi della varianza del profilo acido del latte di caldaia

	Unità di misura	TESI	PERIODO	ERRORE
<b>G.L.</b>		2	2	4
<b>C4:0</b>	%	4,39	5,44	4,79
<b>C6:0</b>	%	0,15	1,6**	0,14
<b>C8:0</b>	%	0,2	0,08	0,53
<b>C10:0</b>	%	0,03	0,11	0,7
<b>C10:1n1</b>	%	0,01	0,02	0,02
<b>C11:0</b>	%	0,005	0,01	0,02
<b>C12:0</b>	%	0,04	0,4	0,9
<b>C12:1n9</b>	%	0,003	0,006	0,008
<b>C13:0</b>	%	0,004	0,01	0,01
<b>C14:0</b>	%	0,03	0,7	1,8
<b>C14:1</b>	%	0,004	0,18*	0,04
<b>C15:0</b>	%	0,003	0,01	0,06
<b>C15:1 cis 10</b>	%	0,0002	0,001	0,003
<b>C16:0</b>	%	25,29***	2,6*	0,4
<b>C16:1 n9</b>	%	0,007	0,0008	0,009
<b>C16:1 n7</b>	%	0,09	0,06	0,05
<b>C17:0</b>	%	0,003	0,002	0,003
<b>C17:1 n9</b>	%	0,0013	0,0004	0,0005
<b>C17:1 n7</b>	%	0,0008	0,001	0,002
<b>C18:0</b>	%	3,49	4,14	2,59
<b>C18:1 n7t</b>	%	0,35°	0,57*	0,15
<b>C18:1 cis n7</b>	%	0,45*	0,11	0,09
<b>C18:1 cis n9</b>	%	0,1	3,13	6,58
<b>C18:2 n6t</b>	%	0,02*	0,04	0,006
<b>C18:2 cis n6</b>	%	0,1	0,08	0,18
<b>C18:3 n6</b>	%	0,000005	0,00005	0,0003
<b>C18:3 n3</b>	%	0,17**	0,02	0,01
<b>CLA 9c 11t</b>	%	0,04°	0,012	0,013
<b>CLA 10t 12c</b>	%	0,01	0,01	0,016
<b>C20:0</b>	%	0,0001	0,00003	0,0008
<b>C20:1 n9</b>	%	0,0003	0,001	0,0009
<b>C20:2 n6</b>	%	0,0007	0,0006	0,0009
<b>C20:3 n6cis</b>	%	0,0004	0,00004	0,0003
<b>C20:4 n6</b>	%	0,0004	0,001	0,005
<b>C20:5 n3cis</b>	%	0,00008	0,00003	0,0001
<b>C21:0</b>	%	0,00004	0,00001	0,0005
<b>C22:0</b>	%	0,00006	0,00004	0,0003

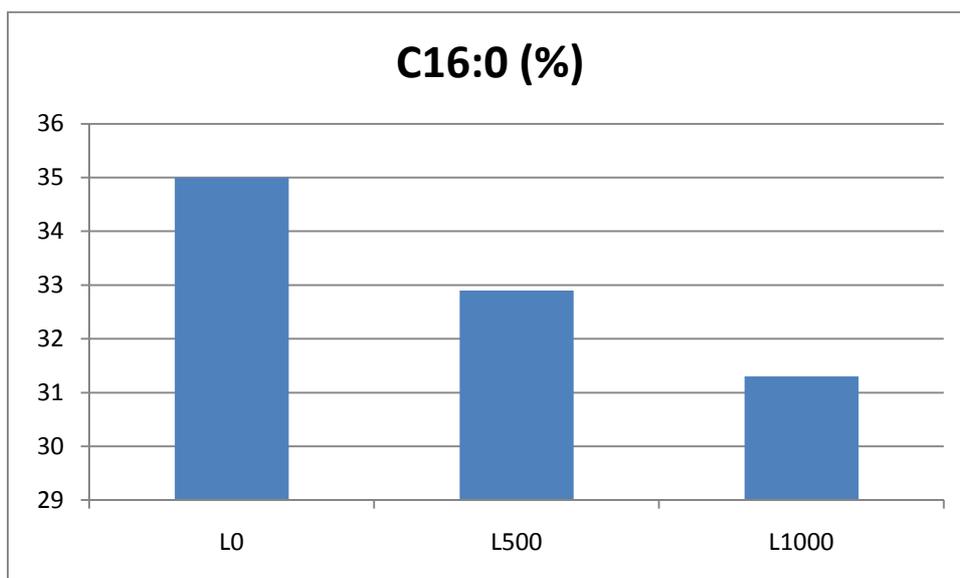
° : P<0,1

\* : P<0,05

\*\* : P<0,01

\*\*\* : P<0,01

Grafico 4.8.2a – **Medie stimate dell'effetto tesi sulla concentrazione dell'acido palmitico**



Volgendo l'attenzione alla tabella 4.8.2b è evidente che il passaggio da una dieta priva di lino estruso ad una che ne contiene in quantità variabili da 500g/d a 1000g/d, apporta un incremento del 18:3n3 e del CLA9c11t; per quanto riguarda il 18:3n3 esiste una leggera significatività anche tra L500 e L1000 ( $P < 0,1$ ). Come ci si aspettava, l'andamento del profilo acido del latte di gruppo rispecchia grosso modo quello osservato per il latte individuale.

La tabella 4.8.2c, dimostra come le percentuali  $\Omega 3$  e  $\Omega 6/\Omega 3$  hanno subito l'effetto della dieta (come già evidenziato per il latte individuale).

Tabella 4.8.2b - **Analisi della varianza dei contrasti della percentuale di  $\Omega 3$**

	G.L.	18:3n3	CLA9c11t
<b>LO Vs MEDIA L500+L1000</b>	1	0,14*	0,03*
<b>L500 Vs L1000</b>	1	0,02°	0,01

°:  $P < 0,1$

\*:  $P < 0,05$

Grafico 4.8.2a – Medie stimate dell’effetto tesi rispetto la percentuale di 18:3n3 e CLA 9c11t (%)

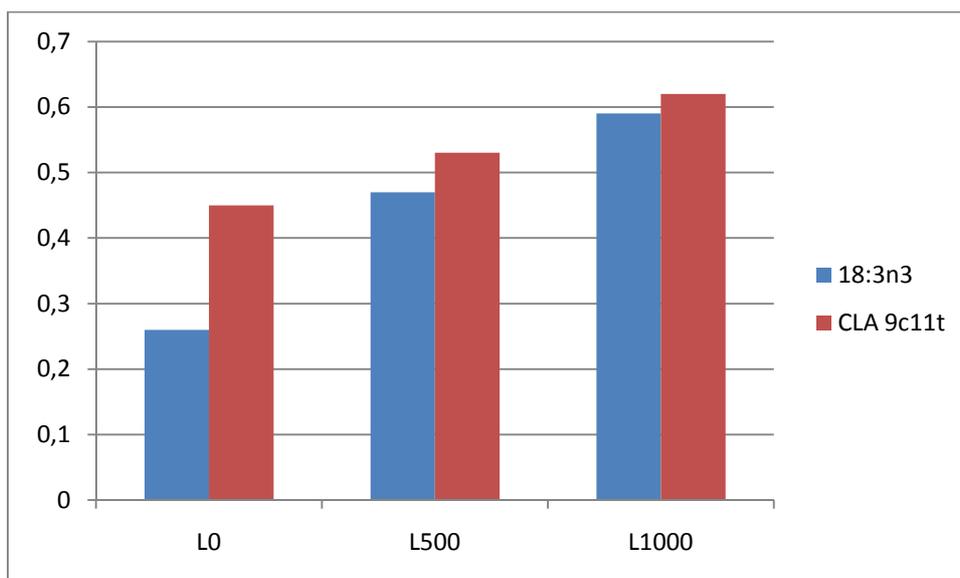


Tabella 4.8.2c - Analisi della varianza del profilo acido del latte di caldaia

	Unità di misura	TESI	PERIODO	ERRORE
<b>G.L.</b>		2	2	4
<b>SFA</b>	%	5,6	12,1	5,73
<b>UFA</b>	%	5,6	12,1	5,73
<b>MUFA</b>	%	1,81	7,86	5,06
<b>PUFA</b>	%	1,08	0,48	0,56
<b>SFA/UFA</b>	%	0,08	0,2	0,1
<b>MUFA/PUFA</b>	%	1,7	0,34	1,66
<b>Ω3</b>	%	0,18**	0,02	0,13
<b>Ω6</b>	%	0,19	0,20	0,26
<b>Ω6/Ω3</b>	%	43,70**	4,1	2,03

\*\* : P<0,01

Il grado di significatività che intercorre tra il confronto L0 vs MEDIA L500+L1000, riferito al rapporto Ω6/Ω3, corrisponde a P=0,0008; ciò dimostra che il suddetto rapporto è notevolmente influenzato dall’effetto delle diete L500 o L1000. La significatività viene meno se si confrontano le due diete contenenti lino (tabella 4.8.2.d).

Il contrasto tra L500 e L1000, riferito all’ammontare degli Ω3, risulta più significativo di quello riscontrato nel latte individuale (P<0,01 vs P<0,1).

Tabella 4.8.2d - Analisi della varianza dei contrasti della percentuale di Ω3 e del rapporto Ω3/ Ω6

	G.L.	Ω3	Ω3/ Ω6
<b>L0 Vs MEDIA L500+L1000</b>	1	0,15**	43,1***
<b>L500 Vs L1000</b>	1	0,03*	0,5

\*: P<0,05

\*\* : P<0,01

\*\*\*: P<0,001

I grafici 4.8.2 a e b, riportano le medie stimate degli  $\Omega 3$  e del rapporto  $\Omega 6/\Omega 3$  rispetto la tesi.

Grafico 4.8.2a – **Medie stimate dell'effetto tesi rispetto la percentuale di  $\Omega 3$**

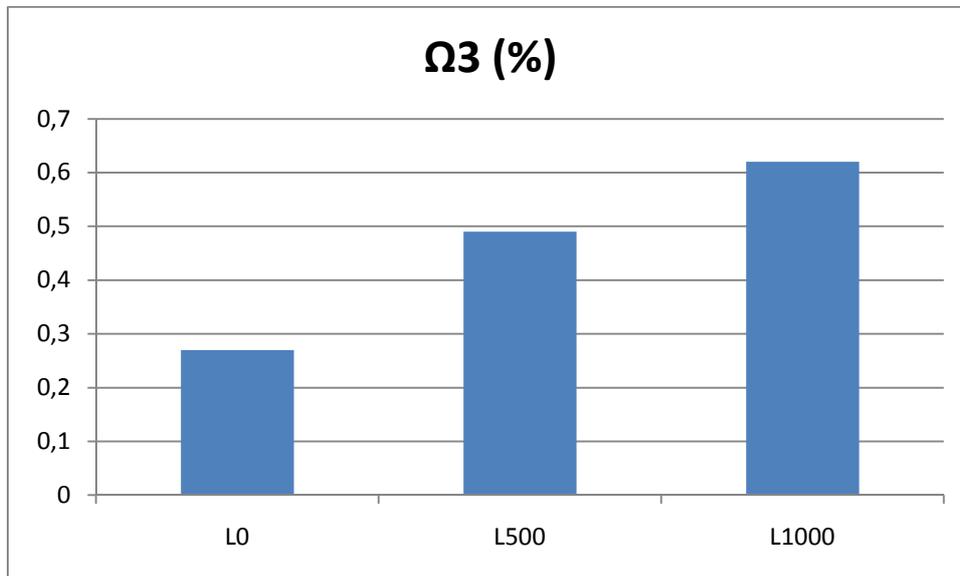
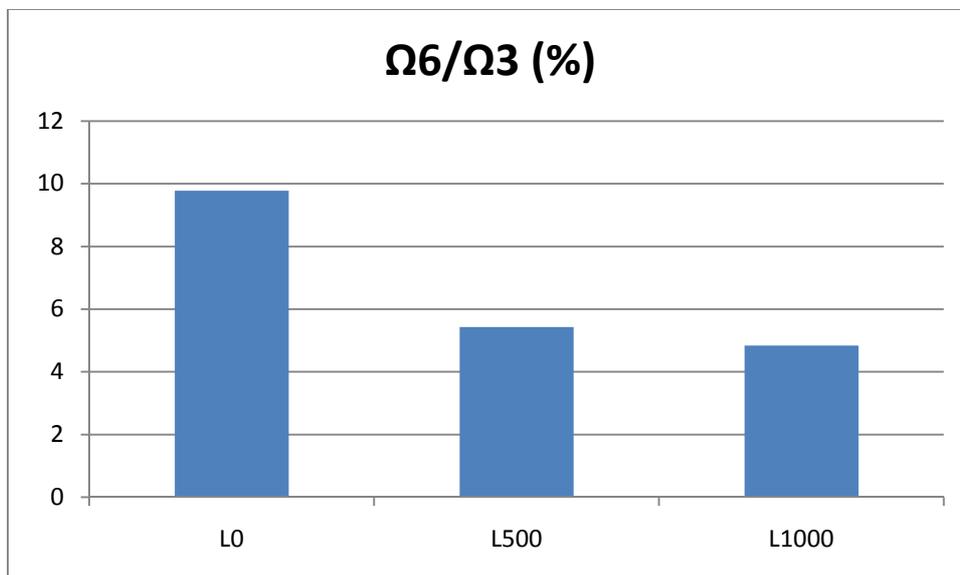


Grafico 4.8.2b – **Medie stimate dell'effetto tesi rispetto la percentuale del rapporto  $\Omega 6/\Omega 3$**



#### 4.9 Parametri ematici

L'analisi del profilo ematico è stato uno dei mezzi utilizzati per individuare possibili ripercussioni della nuova dieta sull'equilibrio fisiologico delle bovine.

Dall'analisi della varianza (tabella 4.9a), non emergono alterazioni riconducibili all'effetto dieta, tuttavia, la bilirubina totale presenta delle variazioni abbastanza significative ( $P < 0,05$ ).

Tabella 4.9a – **Analisi della varianza del profilo ematico comprensivo dei NEFA**

	Unità di misura	TESI	PERIODO	ERRORE
<b>G.L</b>		2	2	4
<b>NEFA</b>	mmol/l	0,000003	0,00012	0,00007
<b>PCV</b>	l/l	0,000001	0,000019	0,0006
<b>PT</b>	g/l	0,0015	5,93	35,79
<b>ALB</b>	g/l	0,06	0,06	0,2
<b>GLO</b>	g/l	0,08	7,13	35,01
<b>Urea</b>	mmol/l	0,03	0,05	0,3
<b>Glucosio</b>	mmol/l	0,006	0,005	0,06
<b>Colesterolo</b>	mmol/l	0,04	0,29	0,69
<b>Bilirubina totale</b>	µmol/l	0,0028	0,25*	0,03
<b>Bilirubina diretta</b>	µmol/l	0,006	0,08	0,13
<b>Bilirubina indiretta</b>	µmol/l	0,0007	0,05	0,1
<b>AST</b>	U/l	6,69	0,81	325,62
<b>GGT</b>	U/l	0,67	0,15	208,5
<b>CK</b>	U/l	128,87	0,19	1905,9
<b>Ca</b>	mmol/l	0,0002	0,001	0,008
<b>P</b>	mmol/l	0,01	0,009	0,04
<b>Mg</b>	mmol/l	0,001	0,0005	0,009

\*: P<0,05

Osservando la tabella 4.9b, risulta che i valori medi delle tre tesi sono abbastanza fedeli agli intervalli proposti da Bertoni G. et al. (1999), questo denota che non sono insorte dismetabolie o deficit energetici capaci di variare il profilo ematico. Solamente il valore riferito alle proteine non è compreso all'interno dell'intervallo di riferimento, infatti si denota un aumento generalizzato delle albumine e una diminuzione delle globuline, oltretutto, il valore totale delle proteine è leggermente inferiore alla concentrazione minima di riferimento (73,3 g/l).

Tabella 4.9b – **Medie dei minimi quadrati dei valori del profilo ematico rispetto alle tre tesi**

	Unità di misura	L0	L500	L1000	Valori di riferimento
<b>NEFA(vedi mm)</b>	mmol/l	0,13	0,12	0,12	0,01-0,52
<b>PCV</b>	l/l	0,3	0,30	0,30	0,27-0,32
<b>PT</b>	g/l	71,7	71,8	71,8	73,3-88,6
<b>ALB</b>	g/l	36,8	36,6	36,7	32,3-35,9
<b>GLO</b>	g/l	34,9	35,2	35,1	38,3-57,6
<b>Urea</b>	mmol/l	4,39	4,49	4,35	3,67-7,71
<b>Glucosio</b>	mmol/l	3,45	3,38	3,41	3,46-4,28
<b>Colesterolo</b>	mmol/l	5,57	5,42	5,43	3,85-7,66 <sup>(1)</sup>
<b>Bilirubina totale</b>	µmol/l	4,20	4,18	4,22	1,63-4,58
<b>AST</b>	U/l	83,58	81,47	82,47	61,1-103,0
<b>GGT</b>	U/l	26,67	26,94	26,27	20,8-45,1
<b>CK</b>	U/l	145,92	149,72	140,5	81 - 209
<b>Ca</b>	mmol/l	2,40	2,39	2,39	2,28-2,69
<b>P</b>	mmol/l	1,98	1,90	1,91	3,21-5,11
<b>Mg</b>	mmol/l	1,06	1,04	1,05	0,85-1,08

(1): Intervallo di valori riferito ad animali sottoposti ad alimentazione con aggiunta di grassi

#### 4.10 Parametri ruminanti

I parametri ruminanti presi in considerazione furono: AGV e NNH3; la tabella 4.10a riporta i valori medi della varianza.

Risulta abbastanza significativa ( $P < 0,05$ ) la varianza corrispondente all'acido iso-valerianico rispetto al livello di tesi.

Tabella 4.10a – Analisi della varianza dei principali parametri ruminanti

	Unità di misura	TESI	PERIODO	errore
<b>G.L.</b>		2	2	4
<b>N-NH3</b>	mg/l	35,05	191,52	1281,6
<b>N-NH3</b>	mmol/l	0,12	0,66	4,43
<b>C2 Ac. acetico</b>	mg/ml	0,0004	0,13	0,53
<b>C3 Ac. prop</b>	mg/ml	0,005	0,009	0,08
<b>Iso-butt</b>	mg/ml	0,000006	0,00002	0,00012
<b>n-buttirrico</b>	mg/ml	0,00005	0,004	0,05
<b>n-valerianico</b>	mg/ml	0,00005	0,00002	0,003
<b>Iso-valerianico</b>	mg/ml	0,000005*	0,00003	0,0003
<b>C2/C3</b>	mg/ml	0,007	0,017	0,05
<b>(C2+C3)/C4</b>	mg/ml	0,01	0,02	0,1

\*:  $P < 0,05$

Il rapporto medio per le tre tesi C2/C3 (2,2 mg/l), denota una leggera diminuzione se confrontato con quanto riportato in letteratura (4:1-3:1) (Bittante et al., 2010).

#### 4.11 Parametri caseificazione

I parametri di caseificazioni esaminati tramite elaborazione statistica sono stati: le rese fino a 30d e il profilo acidico.

##### 4.11.1 Rese formaggio

La resa è uno dei più importanti parametri lattiero-caseari e un suo peggioramento può incidere pesantemente sul prodotto finale.

Esaminando la tabella 4.11.1a risulta evidente come tutte le rese (calcolate a 20min., 180 min., 7d, 14d, 30d) siano state influenzate dal periodo di caseificazione. La resa a 7d sembra essere quella che più ha risentito del periodo di caseificazione; osservando le medie, il periodo 1 ha la resa più alta (10,1%), mentre il periodo2 e il periodo3 hanno una resa rispettivamente di 9 e 9,9 punti percentuali.

Probabilmente le condizioni climatiche durante i tre periodi, hanno inciso sulla resa mutandone i rendimenti attraverso la sperimentazione; questo fenomeno può essere in parte spiegato poiché tra la fine di ottobre (periodo durante il quale è cominciata la prova) e la fine di dicembre (conclusione della sperimentazione), vi sono state delle differenze sostanziali in termini di temperatura e umidità.

Tabella 4.11.1a – Analisi della varianza delle rese del formaggio a 20minuti, 180 minuti, 7 giorni, 14giorni e 30 giorni

	Unità di misura	TESI	PERIODO	ERRORE
<b>G.L.</b>		2	2	4
<b>Resa 20min</b>	%	0,11	2,28°	0,67
<b>Resa 180min</b>	%	0,06	0,88°	0,3
<b>Resa 7d</b>	%	0,1	2,0**	0,11
<b>Resa 14d</b>	%	0,005	0,83*	0,15
<b>Resa 30d</b>	%	0,06	0,9*	0,11

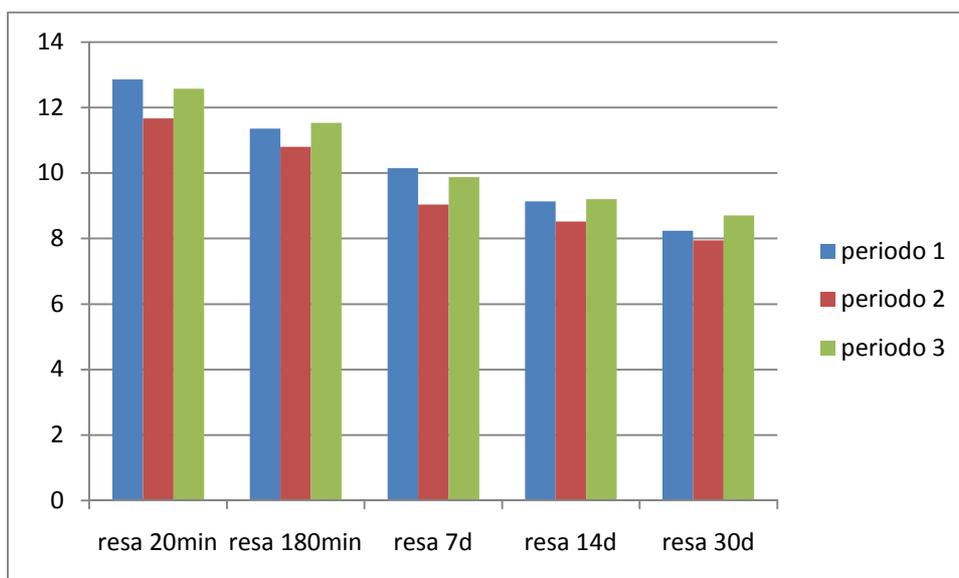
° :P<0,1

\*: P<0,05

\*\* : P<0,01

Il grafico 4.11.1a dimostra come la resa media nel periodo 2 sia stata costantemente inferiore rispetto agli altri due periodi.

Grafico 4.11.1a – Medie stimate dell'effetto tesi rispetto la percentuale di resa del formaggio a 20minuti, 180 minuti, 7 giorni, 14giorni e 30 giorni



#### 4.11.2 Profilo acidico formaggio

L'esame del profilo acidico del formaggio aveva come scopo ultimo quello di dimostrare che l'apporto bilanciato di un integratore nella dieta delle bovine da latte, in questo caso lino estruso, potesse in qualche maniera modificare anche la componente acidica del prodotto finale.

Sappiamo che durante la stagionatura il formaggio va incontro a processi di maturazione che coinvolgono tutti i suoi componenti (es. H<sub>2</sub>O, grasso, proteine) e pertanto per avere una più chiara panoramica dell'impatto della dieta sulle caratteristiche del grasso del formaggio, si è optato per esaminare il profilo acidico durante tutta la stagionatura che si è conclusa a 90d.

La tabella 4.11.2a riporta i risultati di questa indagine e si può subito notare come gli stessi acidi grassi che presentavano una variabilità significativa nel latte individuale e di gruppo, risultano, anche nel formaggio, influenzati dalla dieta.

Più in dettaglio, il CLA9c11t non sembra subire variazioni significative mentre è il C18:0 che, pur avendo una variazione non troppo significativa (P<0,1), risulta modificato nella concentrazione.

Come si è potuto notare per il latte (individuale e di gruppo), anche nel formaggio il C16:0 subisce un decremento significativo passando dalla tesi L0 alla L500 o L1000 (grafico 4.11.2a).

La novità rispetto alle precedenti due indagini (individuale e di gruppo) è rappresentata dall'andamento del C18:0 (prodotto finale della bioidrogenazione degli acidi linoleico e  $\alpha$ -linolenico), che aumenta nelle diete L500 e L1000 (8,7% e 8,9%) rispetto a L0 (7,3%). L'aumento non ha una significatività marcata, anche se possiamo considerare questo dato un'ulteriore dimostrazione dell'effetto delle diete proposte. Infatti, se aumenta la concentrazione di C18:0 aumentando l'apporto di fonti ricche di acido linoleico e  $\alpha$ -linolenico, si aumenta la probabilità che il C18:1trans11 (acido vaccenico), che rappresenta l'ultimo step prima della formazione dell'acido stearico, possa passare al torrente circolatorio dove può essere convertito a livello tissutale in un CLA (vedi *Introduzione*: 1.3Biosintesi dei CLA).

Grafico 4.11.2a - **Medie stimate dell'effetto tesi rispetto la percentuale di C16:0 e C18:0**

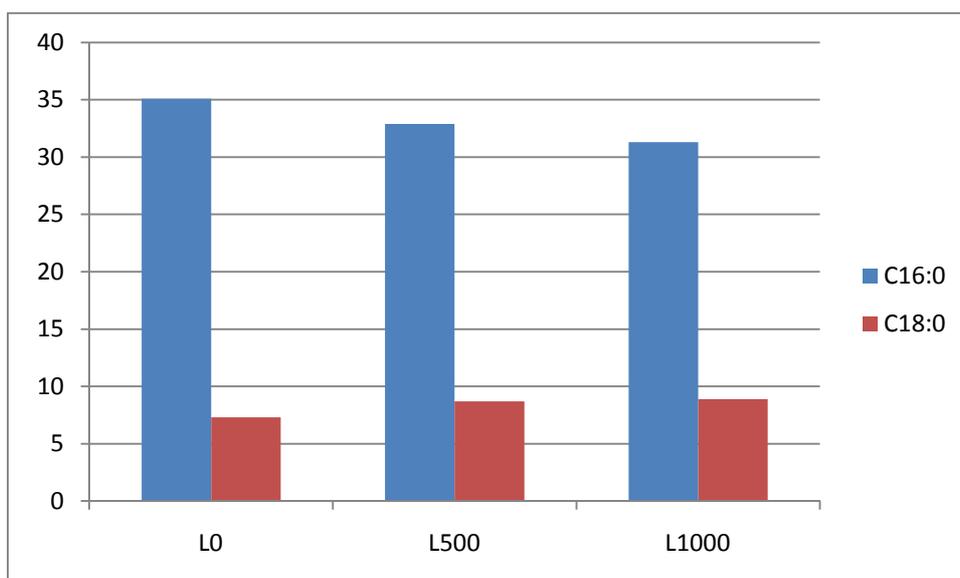


Tabella 4.11.2a – Analisi della varianza del profilo acidico del formaggio

	Unità di misura	TESI	PERIODO	ERRORE
<b>G.L.</b>		2	2	4
<b>C4:0</b>	%	0,08	0,07	0,14
<b>C6:0</b>	%	0,03	0,007	0,06
<b>C8:0</b>	%	0,002	0,01	0,04
<b>C10:0</b>	%	0,008	0,08	0,52
<b>C10:1n1</b>	%	0,00005	0,002	0,002
<b>C11:0</b>	%	0,0003	0,0002	0,0006
<b>C12:0</b>	%	0,03	0,11	0,6
<b>C12:1n9</b>	%	0,0003	0,0003	0,0004
<b>C13:0</b>	%	0,0004	0,0004	0,002
<b>C14:0</b>	%	0,18	0,4	1,35
<b>C14:1</b>	%	0,03	0,037	0,048
<b>C15:0</b>	%	0,002	0,005	0,03
<b>C15:1 cis 10</b>	%	0,006	0,005	0,01
<b>C16:0</b>	%	21,42**	5,9*	0,99
<b>C16:1 n9</b>	%	0,004	0,007	0,008
<b>C16:1 n7</b>	%	0,07	0,047	0,05
<b>C17:0</b>	%	0,001	0,0012	0,0067
<b>C17:1 n9</b>	%	0,0008	0,0025	0,0027
<b>C17:1 n7</b>	%	0,003	0,0023	0,003
<b>C18:0</b>	%	5,07°	4,03	2,19
<b>C18:1 n7t</b>	%	1,14	5,57	2,67
<b>C18:1 cis n7</b>	%	0,32*	0,05	0,05
<b>C18:1 cis n9</b>	%	0,04	2,04	10,34
<b>C18:2 n6t</b>	%	0,002	0,0005	0,008
<b>C18:2 cis n6</b>	%	0,067	0,0043	0,18
<b>C18:3 n6</b>	%	0,0003	0,0003	0,0005
<b>C18:3 n3</b>	%	0,16*	0,03	0,04
<b>CLA 9c 11t</b>	%	0,04	0,009	0,02
<b>CLA 10t 12c</b>	%	0,0004	0,0005	0,0005
<b>C20:0</b>	%	0,00007	0,0006	0,0005
<b>C20:1 n9</b>	%	0,00008	0,0002°	0,00007
<b>C20:2 n6</b>	%	0,00006°	0,00005°	0,00002
<b>C20:3 n6cis</b>	%	0,0004	0,00009	0,0005
<b>C20:4 n6</b>	%	0,0005	0,0008	0,001
<b>C20:5 n3cis</b>	%	0,00002	0,00007	0,0002
<b>C21:0</b>	%	0,00002	0,00003	0,00008
<b>C22:0</b>	%	0,0002	0,00006	0,0003

°: P<0,1

\*: P<0,05

\*\* : P<0,01

Anche i contrasti tra L0 vs MEDIA L500+L1000 e L500 vs L1000 mettono in risalto la diminuzione della concentrazione del C16:0; esiste una significatività discreta anche tra i due livelli di tesi L500 e L1000 (P<0,01).

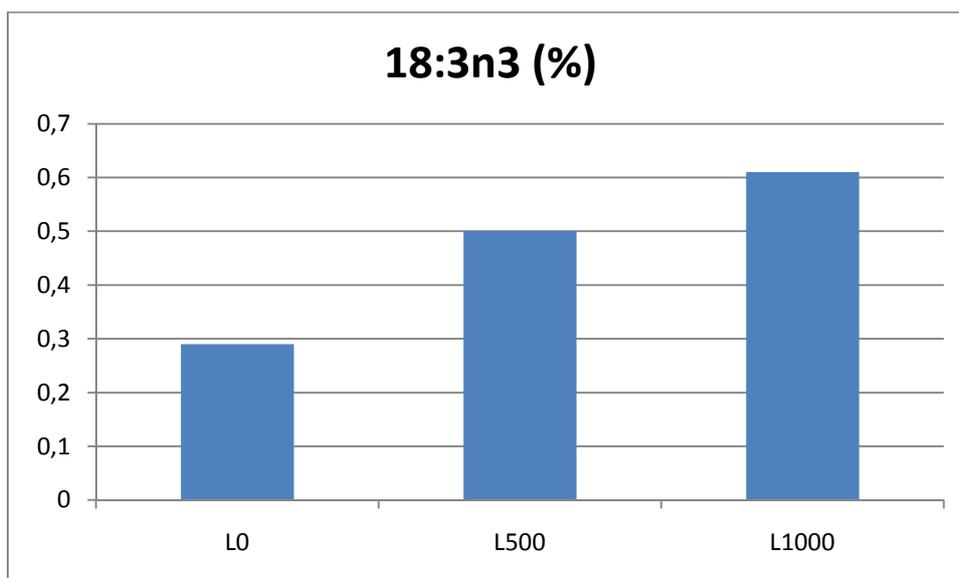
Tabella 4.11.2b - Analisi della varianza dei contrasti della percentuale di C18:0

	G.L.	C16:0	C18:0	C18:3n3
<b>L0 Vs MEDIA L500+L1000</b>	1	17,4**	5*	0,14*
<b>L500 Vs L1000</b>	1	4**	0,08	0,02

\*: P<0,05

\*\* : P<0,01

Grafico 4.11.2b – Medie stimate dell'effetto tesi rispetto la percentuale di 18:3n3



Anche in questo caso ci si attendeva una variazione degli  $\Omega 3$  e del loro rapporto con gli  $\Omega 6$ , infatti, la tabella 4.11.2c, riporta una buona significatività per quando riguarda il rapporto  $\Omega 6/\Omega 3$  ( $P<0,01$ ) mentre questa scende se si considera l'effetto tesi sugli  $\Omega 3$  ( $P<0,05$ ).

I grafici 4.11.2c e 4.11.2d riportano le medie stimate dell'effetto tesi sugli  $\Omega 3$  e sul rapporto  $\Omega 6/\Omega 3$ , l'andamento proposto è molto simile a quello già apprezzato nel latte individuale e di gruppo.

Tabella 4.11.2c – Analisi della varianza del profilo acido del formaggio

	Unità di misura	TESI	PERIODO	ERRORE
<b>G.L.</b>		2	2	4
<b>SFA</b>	%	4,76	1,64	5,39
<b>UFA</b>	%	4,76	1,64	5,39
<b>MUFA</b>	%	1,80	1,61	5,87
<b>PUFA</b>	%	0,72	0,05	0,55
<b>SFA/UFA</b>	%	0,06	0,02	0,07
<b>MUFA/PUFA</b>	%	0,84	0,12	1,86
<b><math>\Omega 3</math></b>	%	0,16*	0,03	0,037
<b><math>\Omega 6</math></b>	%	0,05	0,003	0,21
<b><math>\Omega 6/\Omega 3</math></b>	%	34,82**	3,11	1,91

\*: P<0,05

\*\* : P<0,01

Tabella 4.11.2d – Analisi della varianza dei contrasti della percentuale di  $\Omega_3$  e del rapporto  $\Omega_3/\Omega_6$

	G.L.	$\Omega_3$	$\Omega_6/\Omega_3$
<b>L0 Vs MEDIA L500+L1000</b>	1	0,14*	34,3**
<b>L500 Vs L1000</b>	1	0,02	0,5

\*:  $P < 0,05$

\*\* :  $P < 0,01$

Grafico 4.11.2c – Medie stimate dell'effetto tesi rispetto la percentuale di  $\Omega_3$

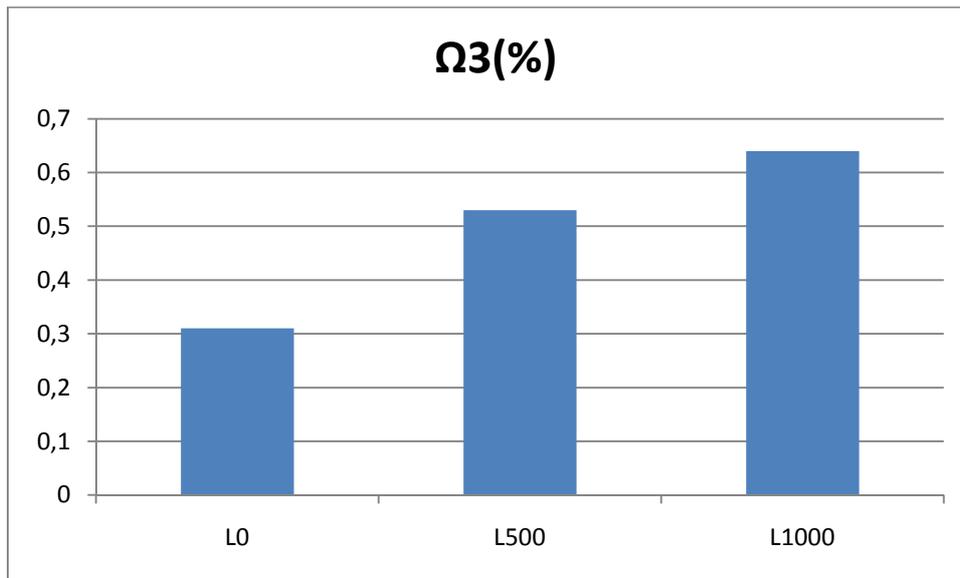
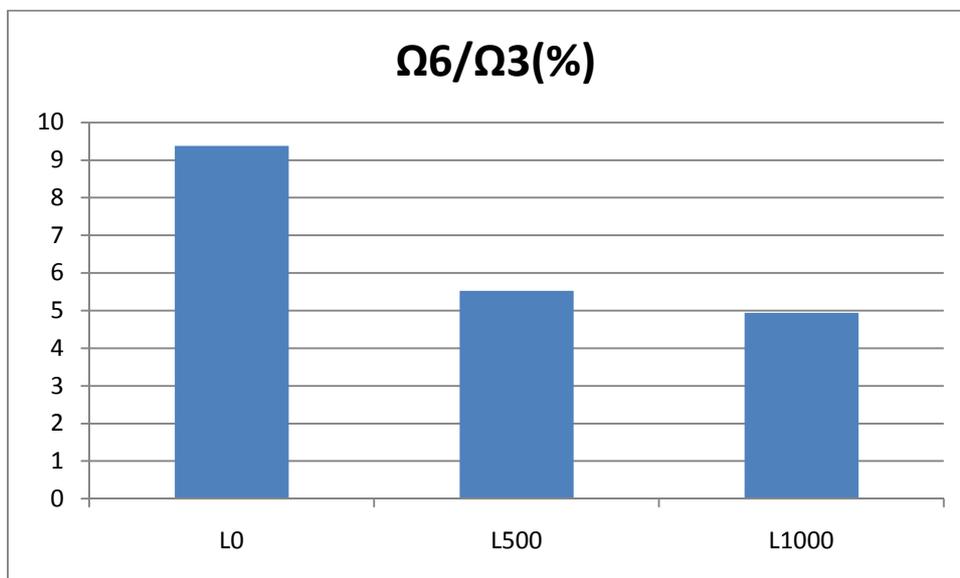


Grafico 4.11.2d – Medie stimate dell'effetto tesi rispetto la percentuale del rapporto  $\Omega_3/\Omega_6$



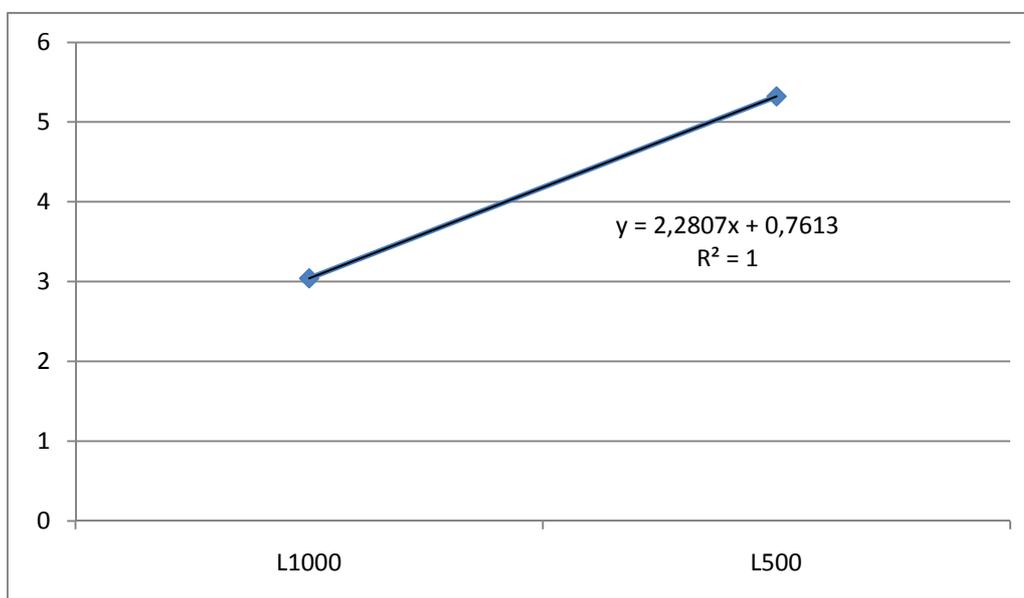
#### 4.12 Tasso di trasferimento $\Omega 3$ dalla razione al formaggio

Uno dei principali obiettivi del lavoro era quello di ricavare il tasso di trasferimento degli  $\Omega 3$  dalla razione al latte e da quest'ultimo al formaggio.

Il grafico 4.12, rappresenta l'andamento del trasferimento di  $\Omega 3$  delle diete L500 ed L1000 (5,3% e 3%) nel latte; come si può notare, la dieta L500 dimostra d'avere un tasso di trasferimento più elevato, probabilmente oltre ad una certa soglia, le capacità di trasferimento di tale acidi, diminuiscono.

Da questa disamina risulta che dosi troppo elevate di lino estruso non comportano un trasferimento ottimale, dunque è consigliabile l'utilizzo di una dose di 500g/d anche perché si espongono a minor rischi gli animali a cui viene somministrata una razione di questo tipo nel lungo periodo.

Grafico 4.12 – Tasso di trasferimento degli acidi grassi  $\Omega 3$  dalla razione al latte (%)



La tabella 4.12, riporta il contenuto in grammi di  $\Omega 3$  su 100g di formaggio; facendo riferimento al regolamento UE N. 116/2010, che indica i claims nutrizionali riferiti ai prodotti contenenti grassi insaturi ed omega  $\Omega 3$ , possiamo differenziare due categorie:

- **FONTE DI ACIDI GRASSI  $\Omega 3$** : prodotto che contiene almeno 0,3g di acido  $\alpha$ linolenico per 100g e per 100Kcal oppure almeno 40mg della somma di acido eicosapentanoico (EPA) e acido docosaesaenoico (DHA) per 100mg e per 100kcal.
- **RICCO DI ACIDI GRASSI  $\Omega 3$** : prodotto che contiene almeno 0,6 g di acido linolenico per 100g e per 100kcal oppure almeno 80mg della somma di acido eicosapentanoico (EPA) e acido docosaesaenoico (DHA) per 100mg e per 100kcal.

Tabella 4.12 – **Contenuto di  $\Omega 3$  espresso in grammi su 100g di formaggio**

	Grasso (%)	Grammi di $\Omega 3/100g$
<b>Periodo 1</b>		
<b>L0</b>	46,7	0,19
<b>L500</b>	45,3	0,27
<b>L1000</b>	41,6	0,42
<b>L0</b>	43,5	0,09
<b>L500</b>	38,5	0,22
<b>L1000</b>	38,2	0,27
<b>Periodo 2</b>		
<b>L0</b>	35,1	0,11
<b>L500</b>	33,8	0,19
<b>L1000</b>	37,8	0,25
<b>L0</b>	37,7	0,11
<b>L500</b>	40,6	0,15
<b>L1000</b>	37,8	0,14
<b>Periodo 3</b>		
<b>L0</b>	42,7	0,19
<b>L500</b>	46,3	0,24
<b>L1000</b>	38,6	0,22
<b>L0</b>	33,8	0,10
<b>L500</b>	34,7	0,20
<b>L1000</b>	34,2	0,19

Osservando i valori riferiti al contenuto di  $\Omega 3$  su 100grammi di formaggio, si riscontra solamente nelle prime tre lavorazioni un contenuto maggiore nella dieta L1000, poi è la dieta L500 che presenta i valori più alti.

I risultati proposti in tabella 4.12 dimostrano come il lino estruso possa agire anche a livello della composizione acidica del formaggio, tuttavia non sempre c'è una corrispondenza lineare con il livello di tesi proposta; tale avvenimento può derivare anche dai processi biochimici e microbiologici che avvengono nel formaggio durante la stagionatura.

Comunque è interessante notare come nel primo periodo, compreso tra il 26/10/2009 e il 9/11/2009, la dieta L1000 abbia causato un aumento degli  $\Omega 3$  a livelli compatibili con i claims sopra elencati, per questi formaggi è possibile dunque usare la dicitura *fonte di acidi grassi  $\Omega 3$* .



## 5.CONCLUSIONI

L'inclusione nella dieta del lino estruso non ha comportato nessun tipo di problematica legata alla salute dell'animale, nonostante le dosi scelte fossero composte da quantità rilevanti (500g/d per la tesi L500 e 1000g/d per la tesi L1000).

Un parametro della prova, di rilevante importanza, fu la durata; infatti, la sperimentazione si svolse nell'arco di 65 giorni in cui i periodi di somministrazione della dieta (periodo 1,2,3) avevano una durata di 14 giorni ciascuno. Probabilmente un periodo più lungo avrebbe permesso di esaminare ancor più nel dettaglio tutte le possibili ripercussioni derivanti dalla nuova supplementazione.

Gli indici qualitativi del latte non hanno subito nessuna variazione, solamente il grasso ha risentito dell'effetto periodo che può aver inciso sulla sua percentuale data la differenza climatica dei tre periodi. Dal punto di vista della tecnologia casearia, l'andamento costante dei principali parametri qualitativi, va interpretata come un dato positivo.

Numerosi studi hanno messo in luce la possibilità di modificare il profilo acido del latte mediante la somministrazione di fonti lipidiche; in questa sperimentazione la risorsa scelta fu il lino estruso, già utilizzato in altri lavori nei quali si è potuto apprezzare una risposta significativa sulla modificazione del contenuto acido del latte (Fuentes, 2008).

Anche la suddetta prova ha mostrato dei valori significativi per quanto riguarda acidi grassi come: C16:0, C18:3n3, CLA9cis11trans e più in generale gli  $\Omega 3$  e  $\Omega 6/\Omega 3$ . Infatti, tutti gli acidi grassi appena elencati, hanno mostrato un aumento in concomitanza con l'aggiunta di lino estruso (più marcato tra L0 vs L500 rispetto L500 vs L1000), con l'eccezione del C16:0 (acido palmitico) il quale è diminuito progressivamente da L0 a L500 e L1000.

Anche la somma degli omega 3 ha subito un incremento, mentre il rapporto  $\Omega 6/\Omega 3$  è diminuito con l'effetto tesi.

Questi dati sono coerenti con quanto riportato già in letteratura e dimostrano ulteriormente le influenze sul profilo acido del latte che possono essere apportate modificando l'alimentazione.

Nonostante la letteratura sia ricca di studi che dimostrano quanto riportato sopra, non si trovano ancora lavori che descrivano in modo dettagliato gli effetti conseguenti all'apporto di fonti lipidiche non solo sul latte ma anche sui suoi derivati (es. formaggio e yogurt), almeno per quanto riguarda il latte di bovino.

L'originalità di questo lavoro è legata al fatto che si è tentato di quantificare il passaggio degli acidi grassi omega 3, e dei CLA, dalle benefiche proprietà, anche nel formaggio (stagionato a 90d).

In effetti, se si osserva il profilo acido dei formaggi, si può notare un aumento del C18:3n3 e del CLA9cis11trans, che concorda con quanto riportato sopra. Inoltre, come nel latte, vi è stata una diminuzione del C16:0, conseguente all'utilizzo del lino estruso e anche un aumento del C18:0. Rispetto al latte dunque, si è potuto osservare che la componente satura ha subito dei mutamenti anche per quanto riguarda l'acido stearico (C18:0), che ricordiamo essere il prodotto finale della bioidrogenazione (processo durante il quale si formano i CLA). I valori corrispondenti alla somma degli  $\Omega 3$  e al rapporto  $\Omega 6/\Omega 3$  dimostrano lo stesso andamento osservato nel latte.

Il profilo ruminale non ha riportato nessun mutamento ascrivibile a turbe digestivo-metaboliche, il che rafforza la tesi che anche massicce dosi di lino estruso non vanno ad intaccare l'equilibrio fisiologico dell'animale (perlomeno nel breve periodo).

Dal rapporto medio C2/C3 misurato (2,2 : 1), si può affermare che vi è stata una diminuzione dell'attività dei batteri cellulolitici a favore di quelli amilolitici, questo dato può derivare dal fatto che aumentando l'apporto di concentrati, il pH ruminale scende sino a valori che risultano inadatti per la prima tipologia di

microrganismi. Comunque, il rapporto C2/C3 non ha mostrato variazioni significative durante la prova, il che può derivare da uno stato pregresso di leggera acidosi. Doreau (1991) afferma che diete grassate vanno ad inibire l'attività dei batteri cellulolitici più marcatamente rispetto a quella degli amilolitici.

Un altro dato che consolida la teoria che l'apporto di lino estruso non ha particolari ripercussioni sull'equilibrio fisiologico della bovina, deriva dall'esame del profilo ematico in cui non si osservano valori al di fuori dei limiti fisiologici (solamente le proteine totali sono leggermente inferiori rispetto al limite minore di riferimento: 71,7 g/l vs 73,3 g/l)(Bertoni et al., 1999).

Il contenuto di acidi grassi  $\Omega 3$  sul formaggio ha soddisfatto le nostre aspettative solamente sui prodotti ricavati dal latte munto durante il primo periodo di prova; dalle prime due caseificazioni è stato ottenuto un formaggio con un contenuto massimo che si assesta tra 0,3g/100g e 0,4g/100g (valori che si riferiscono alla dieta L1000), mentre negli altri due periodi la quantità massima dei suddetti acidi, scende a livelli attorno 0,20g/100g e 0,25g/100g (valori che si riferiscono alla dieta L500).

Osservando l'effetto generale apportato dalla nuova dieta, si consiglia l'utilizzo del livello L500 (500g/d) poiché le differenze dal punto di vista statistico tra L500 e L1000 non sono quasi mai significative.

Dal punto di vista pratico, la tesi L500 risulta evidentemente più economica e adatta ad un periodo di somministrazione più prolungato.

In questa sperimentazione sono state utilizzate delle metodologie innovative sia per quanto riguarda l'aspetto della caseificazione, dove sono state utilizzate particolari caldaie della capienza di 10l (vedi *Materiale e metodi*: 3.8Caseificazione), sia durante l'esame cromatografico del grasso (per ottenere il profilo acidico) dove è stato impiegato un gascromatografo munito di una speciale colonna che ha permesso la separazione dei CLA (CLAcis9trans11 e CLA trans10cis12).



## 6.BIBLIOGRAFIA

ABAYASEKARA D.R.E., WATHES D.C. (1999) - Effects of altering dietary fatty acid composition on prostaglandin synthesis and fertility. *Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids* 61: 275–287.

AHANG R.H., MUSTAFA A.F., ZHAO X. (2005) - Effects of feeding oilseeds rich in linoleic and linolenic fatty acids to lactating ewes on cheese yield and on fatty acid composition of milk and cheese. *Animal Feed Science and Technology* 127: 220-233.

AMBROSE D.J., KASTELIC J.P., CORBETT R., PITNEY P.A., PETIT H.V., SMALL J.A., ZALKOVIC P. (2006) - Lower pregnancy losses in lactating dairy cows fed a diet enriched in  $\alpha$ -linolenic acid. *Journal of Dairy Science* 89: 3066–3074.

BAILONI L., BORTOLOZZO A., MANTOVANI R., SIMONETTO A., SCHIAVON S., BITTANTE G. (2004) - Feeding dairy cows with full fat estrude or toasted soybean seeds as replacement of soybean meal and effects on milk yield, fatty acid profile and CLA content. *Italian Journal of Animal Science* 3: 243-258.

BAUCHART D, LEGAY-CARMIER F, DOREAU M, GAILLARD B. (1990) - Lipid metabolism of liquid-associated and solid-adherent bacteria in rumen contents of dairy cows offered lipid-supplemented diets. *British Journal of Nutrition* 63(3):563-78.

BAUMAN D.E., BAUMGARD L.H., CORL B.A., GRIINARI J.M. (1999) – Biosynthesis of conjugated linoleic acid in ruminants. *Proceedings of the American Society of Animal Science*: 3.

BAUMAN D.E., GRIINARI J.M. (2001) – Regulation and nutritional manipulation of milk fat: low-fat milk syndrome. *Livestock Production Science* 70: 15-29.

BERTONI G., PICCIOLI CAPPELLI F.(1999) – Guida all'interpretazione dei profili metabolici.

BITMAN J., WOOD D.L. (1990) – Changes in milk fat phospholipids during lactation. *Journal Dairy of Science* 73: 1208-1216.

BITTANTE G, ANDRIGHETTO I., RAMANZIN M. (2010). *Fondamenti di Zootecnica*. Liviana Scolastica Editore.

CABIDDU A. , MOLLE G., DECANDIA M., SPADA S., FIORI M., PIREDDA G., ADDIS M.(2008)-Response to condensed tannis of flowering sulla (*Hedysarum coronarium L.*) grazed by dairy shep. Part 2: Effects on milk fatty acid profile. *Livestock Science* 123: 230-240.

CALDARI-TORRE, C., RODRIGUEZ-SALLABERRY, C., GREENE, E.S., BADINGA, L. (2006). Differential effects of n-3 and n-6 fatty acids on prostaglandin F<sub>2</sub> production by bovine endometrial cells. *Journal of Dairy Science* 89: 971–977.

CHENG, Z., ROBINSON, R.S., PUSHPAKUMARA, P.G.A., MANSBRIDGE, R.J.,WATHES, D.C. (2001). Effect of dietary polyunsaturated fatty acids on uterine prostaglandin synthesis in the cow. *Journal of Endocrinology* 171, 463–473.

CHEUK KAI LAM, JINGNAN CHEN, YING CAO, LIN YANG, YIN MEI WONG, SAI YING VENUS YEUNG, XIAOQIANG YAO, YU HUANG, ZHEN-YU CHEN. (2007)-Conjugated and non-conjugated octadecaenoic acids

affect differently intestinal acyl coenzyme A: Cholesterol acyltransferase activity. *Atherosclerosis* 198: 85-93.

CHRISTIE W.W., CLAPPERTON J.L., 1982 - Structures of cow's milk, fortified milks (including infant formula) and human milk. *Journal of Society of Dairy Technology*. 35: 22.

COLLOMB M., SCHMID A., SIEBER R., WECHSLER D., RYHANEN E.L.(2006)-Conjugated linoleic acids milk fat: Variation and physiological effects. *International Dairy Journal* 16: 1347-1361.

COLLOMB M., SOLLBERGER H., BÜTIKOFER U., SIEBER R., STOLL W., SCHAEREN W.(2003)-Impact of basal diet of hay and fodder beet supplemented with rapeseed, linseed and sunflowerseed on the fatty acid composition of milk. *International Dairy Journal* 14: 549-559.

COOK M.E., PARIZA M. (1998)-The role of conjugated linoleic acid (CLA) in Health. *International Dairy Journal* 8: 459-462.

CORL B.A., BAUMGARD L.H., DWYER D.A., GRIINARI J.M., PHILLIPS B.S., BAUMAN D.E. (2001)-The role of  $\Delta^9$ -desaturase in the production of *cis-9, trans-11* CLA. *Journal of Nutritional Biochemistry* 12: 622-630.

DEL TOMA E., MARABELLI R., PIZZOFRERATO L., ROMANO F. (2007) – Libro bianco sul latte e prodotti lattiero-caseari. *Compendio per medici. I quaderni di Accademia, il Sole 24 ore sanità* (pag.258-260).

DOMAGALA J., SADY M., GREGA T., PUSTKOWIAK H., FLORKIEWICZ A. (2009)-The influence of cheese type fat extraction method on the content of conjugated linoleic acid. *Journal of Food Composition and Analysis* 23: 238-243.

DOREAU M., CHILLIAR Y., BAUCHART D., MICHALET-DOREAU B. (1991) – Influence of different fat supplements on digestibility and ruminal digestion in cows. *Ann. Zootech* 40: 19-30.

ESNER M., SCOLLAN N.D., CHOI N.J., KURT E., HALLET K., WOOD J.D. (1999) – Effect of dietary lipid on content of conjugated linoleic acid (CLA) in beef muscle. *Journal of Animal Science* 69: 143-146.

FUENTES M.C., CASALSAMIGLIA S., SANCHEZ C., GONZALEZ A., NEWBOLD J.R., SANTOS J.E.P., RODRIGUEZ-ALCALA L.M., FONTECHA J. (2007)-Effect of extruded linseed on productive and reproductive performance of lactating dairy cows. *Livestock Science* 113: 144-154.

FUENTES M.C., CALSAMIGLIA S., SANCHEZ C., GONZALEZ A., NEWBOLD J.R., SANTOS J.E.P., RODRIGUEZ-ALCALA L.M., FONTECHA J. (2008) – Effect of extruded linseed on productive and reproductive performance of lactating dairy cows. *Livestock Science* 113: 144-154.

GIUSSANI A. (2005) – Latte di qualità. Allevamento, alimentazione e mungitura delle bovine. *Il sole 24 ore ED Agricole, Roma*. pp 10-35.

GONTHIER C., MUSTAFA A.F., OUELLET D.R., CHOUINARD P.Y., BERTHIAUME R., PETIT H.V. (2004) – Feeding micronized and extruded flaxseed to dairy cows: effects on blood parameters and milk fatty acid composition. *American Dairy Science Association* 88: 748-756.

- GRIINARI J. M., AND D. E. BAUMAN. (1999) - Biosynthesis of conjugated linoleic acid and its incorporation into meat and milk in ruminants. In: M. P. YURAWECZ, M. M. MOSSOBA, J. K. G. KRAMER, M. W. PARIZA, and G. J. NELSON (Eds.)- *Advances in Conjugated Linoleic Acid Research*, Vol. 1. pp 180-200. AOCs Press, Champaign, IL.
- GRUMMER R. (1991) – Effect of feed on the composition of milk fat. *Journal of Dairy Science* 74: 3224-3257.
- HARFOOT C.G.( 1978) - Lipid metabolism in the rumen. *Progress in Lipid Research* 17: 21-54
- HARFOOT C.G.,NOBLE R.C., MOORE J.H. (1973) - Factors influencing the extent of biohydrogenation of linoleic acid by rumen microorganism in vitro. *Journal Food Agric.* 24: 961.
- HUANG Y., SCHOONMAKER J.P., OREN S.L., TRENKLE A., BEITZ D.C. (2008)-Calcium salts of CLA improve availability of dietary CLA. *Livestock Science* 122: 1-7.
- JAHREIS G., FRITSCHKE J., MOCKEL P., SCHONE F., MOLLER U., STEINHART H. (1999)- The potential anticarcinogenic conjugated linoleic acid, cis9trans11 C18:2, in milk of different species: cow, goat, ewe, sow, mare, woman. *Nutrition Research* 19: 1541 -1549.
- JENKINS T.C., BOSTON R.C., MOATE P.J., LEAN J.I. (2008) – Kinetics of ruminal lipolisi of triacylglycerol and biohydrogenation of long-chain fatty acids: new insights from old data. *Journal of Dairy Science* 91: 731-742.
- JENKINS T.C. (1992)-Symposium: Advanced in ruminant lipid metabolism. *Journal Dairy Science* 76: 3851-3863.
- KHANAL R.C., DHIMAN T.R. , BOMAN R.L.(2006)-Changes in fatty acid composition of milk from lactating dairy cows during transition to and from pasture. *Livestock Science* 114: 164-175.
- KINSELLA J.E. (1972). - Stearoyl-CoA as a precursor of oleic acid and glycerolipids in mammary microsomes from lactating bovine: possible regulatory step in milk triglyceride synthesis. *Lipids* 7: 349-355.
- MARTILLOTTI F., BARTOCCI S., TERRAMOCCIA S. (1996) – Guida all'alimentazione dei ruminanti da latte. Tavole dei valori nutritivi degli alimenti di interesse zootecnico. Quaderni di Zootecnica (edizione Inea).
- MATTOS, R., GUZELOGLU, A., BADINGA, L., STAPLES, C.R., THATCHER, W.W. (2003) - Polyunsaturated fatty acids and bovine interferon-tau modified phorbol ester-induced secretion of prostaglandin F<sub>2α</sub> and expression of prostaglandin endoperoxide synthase-2 and phospholipase-A2 in bovine endometrial cells. *Biology of Reproduction*: 69, 780–787.
- MATTOS, R., STAPLES, C.R.,WILLIAMS, J., AMOROCHO, A., MCGUIRE, M.A.,THATCHER, W.W., (2002). Uterine, ovarian, and production responses of lactating dairy cows to increasing dietary concentrations of menhaden fish meal. *Journal of Dairy Science*: 85, 755–764.
- MEIER S., LEDGARD A.M., SATO T.A., PETERSON A.J., MITCHELL M.D. (2008)-Polyunsaturated fatty acids differentially alter PGF<sub>2α</sub> and PGE<sub>2</sub> release from bovine trophoblast and endometrial tissues during short-term culture. *Animal Reproduction Science* 111: 353-360.

MITCHELL P.L., LANGILLE M.A. , CURRIE D.L., McLEOD R.S. (2005)-Effect of conjugated linoleic acid isomers on lipoproteins and atherosclerosis in the Syrian Golden hamster. *Biochimica et Biophysica Acta* 1734: 269-276.

NESTEL P., FUJII A., ALLEN T. (2005)-The *cis*-9, *trans*-11 isomer of conjugated linoleic acid (CLA) lowers plasma triglyceride and raises HDL cholesterol concentrations but does not suppress aortic atherosclerosis in diabetic apoE-deficient mice. *Atherosclerosis* 189: 282-287.

NTAMBI J.M., MIYAZAKI M. (2004)- *Progress in lipid research* 43: 91-104.

NUNES E.A., BONATTO S.J., DE OLIVEIRA H.H.P., RIVERA N.L.M., MAIORKA A., KRABBE E.L., TANHOFFER R.A., FERNANDES L.C. (2007)-The effect of dietary supplementation with 9-*cis*: 12-*trans* and 10-*trans*:12-*cis* conjugated linoleic acid (CLA) for nine months on serum cholesterol, lymphocytes proliferation and polymorphonuclear cells function in Bigle dogs. *Research in Veterinary Science* 84: 62-67.

OBA M., THANGAVELU G., DEGHAN-BANADAKY M., AMBROSE D.J. (2008)-Unprocessed whole flaxseed is as effective as dry-rolled flaxseed at increasing  $\alpha$ -linolenic acid concentration in milk of dairy cows. *Livestock Science* 122: 73-76.

PARIZA W.M., KANG K. (2001) – *trans*-10, *cis*-12-Conjugated linoleic acid reduces leptin secretion from 3T3-L1 adipocytes. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 287: 377-382.

PARIZA M.W., Y. PARK, COOK M.E. (1999) - Conjugated linoleic acid and the control of cancer and obesity. *Toxicological Sciences*: 52(Suppl.):107-110.

PETERSON D.G., KELSEY J.A., BAUMAN D.E. (2002)-Analysis of variation in *cis*-9, *trans*-11 conjugated linoleic acid (CLA) in milk fat of dairy cows. *Journal Dairy Science* 85: 2164-2172.

PETIT, H.V., DEWHURST, R.J., PROULX, J.G., KHALID, M., HARESIGN, W., TWAGIRAMUNGU, H., (2001) - Milk production, milk composition, and reproductive function of dairy cows fed different fats. *Canadian Journal of Animal Science* 81: 263–271.

POLAN C.E., McNEILL J.J., TOVE S.B. (1964)-Biohydrogenation of unsaturated fatty acids by rumen bacteria. *Journal of Bacteriology* 4: 1056-1064.

PRANDINI A., SIGOLO S., TANSINI G., BROGNA N., PIVA G. (2007)- Different level of conjugated linoleic acid (CLA) in dairy products from Italy. *Journal of Food Composition and Analysis* 20: 472-479.

RHAINDS D., BRISETTE L. (1999)-Low density lipoprotein uptake: holoparticle and cholesteryl ester selective uptake. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology* 31: 915-931.

RODRIGUEZ C.A., GONZALEZ J., ALVIR M.R., CABALLERO R. (2007)-Effects of feed intake on in situ rumen microbial contamination and degradation of feed. *Livestock Science* 116: 108-117.

ROUPAS. P., ROYLE P., DESCAMPS R., SCHERER B., McINTOSH G. (2005)-The impact of cheese consumption on markers of cardiovascular risk in rats. *International Dairy Journal* 16: 243-251.

SECCHIARI P., ANTOGIOVANNI M., MELE M., SERRA A., BUCCIONI A., FERRUZZI G., PAOLETTI F., PETACCHI F. (2003) - Effect of kind of dietary fat on the quality of milk fat from Italian Friesian cows. *Livestock Production Science* 83: 43-52.

SECCHIARI P, MELE M., SERRA A., PAOLETTI F. (2002) – Le frazioni lipidiche del latte e della carne dei ruminanti. In: *Latte e carne dei ruminanti: component lipidica e salute umana. Atti academia dei Gergofili*, pp. 7-95.

SIEBER R., COLLOMB M., AESCHLIMANN A., JELEN P., EYER H. (2003)-Impact of microbial cultures on conjugated linoleic acid in dairy products- a review. *International Dairy Journal* 14: 1-15.

SMALL, J.A., ZALKOVIC, P., 2006. Lower pregnancy losses in lactating dairy cows fed a diet enriched in  $\alpha$ -linolenic acid. *Journal of Dairy Science* 89: 3066–3074.

SMALL D.M., 1991. - The effects of glyceride structure on absorption and metabolism. *Annual Review of Nutrition* 11: 413-434.

SOFI F., BUCCIONI A., CESARI F., GORI A.M., MINIERI S., MANNINI L., CASINI A., GENSINI G.F., ABBATE R., ANTOGIONANNI M. (2009) - Effects of dairy products (pecorino cheese) naturally rich in *cis*-9, *trans*-11 conjugated linoleic acid on lipid, inflammatory and haemorheological variables: A dietary intervention study. *Nutrition, Metabolism et Cardiovascular Diseases* 20: 117-124.

STORLIEN L.H., KRIKETOS A.D., CALVERT G.D., BAUR L.A., JENKINS A.B. (1997)-Fatty acids, triglycerides and syndromes of insulin resistance. *Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acid* 57: 379-385.

SUN JIN HUR, GU BOO PARK, SEON TEA JOO. (2006)-Biological activities of conjugated linoleic acid (CLA) and effects of CLA on animal products. *Livestock science* 110: 221-229.

THATCHER, W.W., 2002. Uterine, ovarian, and production responses of lactating dairy cows to increasing dietary concentrations of menhaden fish meal. *Journal of Dairy Science* 85: 755–764.

THATCHER, W.W., BINELLI, M., BURKE, J.M., STAPLES, C.R., AMBROSE, J.D., COELHO, S., 1997. Antiluteolytic signals between conceptus and endometrium. *Theriogenology* 47: 131–140.

WOODS V.B., FEARON A.M. (2009)-Dietary sources of unsaturated fatty acids for animals and their transfer into meat, milk and eggs: A review. *Livestock Science* 126: 1-20.

Y.PARK (2008)-Conjugated linoleic acid (CLA). Good or bad *trans* fat? *Journal of Food Composition and Analysis* 22S: S4-S12.

Y.PARK, J.M.STORKSON, J.M.NTAMBI, M.E.COOK, C.J.SIH, M.W.PARIZA (2000)-Inhibition of hepatic stearyl-CoA desaturase activity by *trans*-10, *cis*-12 conjugated linoleic acid and its derivatives. *Biochimica et Biophysica Acta* 1486: 285-292.

Y.PARK, M.W.PARIZA (2006) - Mechanisms of body fat modulation by conjugated linoleic acid (CLA). Food Research International 40: 311-323.

Z.WU, O.A.OHAJURUKA, D.L.PALMQUIST (1991) - Ruminal Synthesis, biohydrogenation and digestibility of fatty acids by dairy cows. Journal Dairy Science 74: 3025-3034.

## ABBREVIAZIONI

°SH = acidità titolabile

a30 = consistenza della cagliata al tempo standard

AA = acido arachidonico

ACC = acetilCoA carbossilasi

AGV = acidi grassi volatili

ALB = albumina

ARAV= associazione regione allevatori Veneto

ASE = accelerated solvent extraction

AST = aspartato amino transferasi

BCS = body condition score

BH = biohydrogenation

Br = Bruna

CHD = cardio heart disease

CK = creatin chinasi

CLA = conjugated linoleic acid

DHA= acido docosaesaenoico

DIM = days in milk

E211 = sodio benzoato

EE = estratti eterei

EPA= acido eicosapentanoico

FA = fatty acid

FAS = fatty acid syntasis

FI = Frisona italiana

G.L = gradi di libertà

GGT =  $\gamma$ -Glutamyl tansferasi

GLO = globulina

HPCL= High pressure liquid cromatography (cromatografia liquida ad alta pressione)

IFN $\tau$  = interferone tau

K20 = tempo di rassodamento (min)

L0 = dieta contenente 0 grammi di lino estruso

L1000 = dieta contenente 1000 grammi di lino estruso

L500 = dieta contenente 500 grammi di lino estruso

LCFA = long chain fatty acid

LCPUFA = long chain polyunsaturated fatty acid

LDG = lattodinamografico

LDL = low density lipoprotein

MCFA = medium chain fatty acid

NaMetOH = Sodio metossido

NEFA = not esterificated fatty acid  
NIR = near infrared relectance  
PCV = packed cells volume  
PG = proteina grezza  
PGF<sub>2α</sub> = prostaglandine della serie F<sub>2α</sub>  
PT = proteine  
PUFA= polyunsaturated fatty acid  
r = tempo di coagulazione (min)  
RA = acido rumenico  
SCD = steaoril CoA-Desaturasi  
SCFA= short chain fatty acid  
Soia f.e. = soia farina estrusa  
TXA<sub>2</sub>= trombossani  
UFA = unsaturated fatty acid  
VA = acido vaccenico



## **RINGRAZIAMENTI**

Un affettuoso ringraziamento a tutto il personale dell'Azienda sperimentale L.Toniolo e del Dipartimento di Scienze Animali che mi ha concesso parte del loro prezioso tempo.

Alla prof.essa Lucia Bailoni per avermi permesso di intraprendere questo affascinante percorso.

Al dott. Alberto Simonetto per la disponibilità concessami.

Al dott. Massimo De Marchi per l'indispensabile lavoro svolto in fase di elaborazione statistica.

Ai miei Amici per la vicinanza che hanno dimostrato durante questi anni.

L'ultimo doveroso ringraziamento va a mia Madre e mia Sorella per tutte le volte che mi hanno supportato e aiutato a realizzare questo Sogno.