



UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI PADOVA

Dipartimento di Agronomia Animali Alimenti Risorse Naturali e  
Ambiente

Corso di laurea magistrale in Scienze e Tecnologie Animali

Effetto dell'integrazione alimentare con *Chlorella  
vulgaris* su prestazioni produttive e qualità del  
prodotto in polli da carne

Relatore: Prof.ssa Angela Trocino

Correlatore: Dott.ssa Marija Boskovic Cabrol

Laureando: Mattia Pravato

Matricola n.: 2057347

ANNO ACCADEMICO 2022/2023



## INDICE

<b>Riassunto</b> .....	5
<b>Abstract</b> .....	7
<b>Introduzione</b> .....	9
<b>Tecnica di allevamento del pollo da carne</b> .....	11
<b>Alimentazione del pollo da carne</b> .....	14
<b>Materie prime convenzionali</b> .....	15
<b>Materie prime alternative, le alghe</b> .....	18
<b>Le alghe nell'alimentazione degli avicoli</b> .....	22
<b>Obiettivi</b> .....	27
<b>Materiale e Metodi</b> .....	29
<b>Descrizione dell'allevamento</b> .....	29
<b>Animali e diete sperimentali</b> .....	30
<b>Rilievi in vivo</b> .....	35
<b>Macellazione commerciale e dissezione delle carcasse</b> .....	35
<b>Caratteristiche delle carcasse e qualità della carne</b> .....	36
<b>Analisi chimiche</b> .....	38
<b>Analisi statistica</b> .....	38
<b>Risultati e Discussione</b> .....	39
<b>Prestazioni produttive</b> .....	39
<b>Risultati di macellazione</b> .....	42
<b>Presenza di miopatie</b> .....	42
<b>Qualità della carne</b> .....	42
<b>Conclusioni</b> .....	48
<b>Bibliografia</b> .....	49



## Riassunto

La domanda globale di prodotti di origine animale è in continuo aumento a causa della crescita esponenziale della popolazione, dell'aumento dei redditi medi e della continua urbanizzazione. Questo comporta una maggiore richiesta di materie prime proteiche da parte della zootecnia per far fronte ai fabbisogni alimentari degli animali in produzione. Nel corso degli anni, fra le fonti proteiche alternative e sostenibili in valutazione, le microalghe sono state individuate come alimento in grado di apportare acidi grassi polinsaturi, microelementi, vitamine ed antiossidanti, oltre che proteine. Il loro uso nella dieta degli avicoli apporta benefici su funzioni immunitarie, prestazioni produttive, qualità della carne e delle uova.

Fatta questa premessa, la presente tesi ha avuto come scopo la valutazione dell'effetto dell'integrazione alimentare con due livelli di *Chlorella vulgaris* (3% e 6%) sulle prestazioni produttive, i risultati di macellazione e la qualità delle carni di polli broiler di due sessi diversi allevati in condizioni di stress termico cronico o in condizioni termoneutre. A questo scopo sono stati allevati 576 polli di sesso maschile e femminile, Ross 308, da 1 a 42 giorni di età. Gli animali sono stati collocati in 36 recinti in due stanze diverse mantenute a temperatura controllata nello stabulario dell'Università di Padova, (18 recinti per stanza; 16 polli per recinto), secondo la disposizione sperimentale con 3 trattamenti alimentari (diete C0, C3 e C6 con 0%, 3% e 6% di *C. vulgaris*, rispettivamente), 2 temperature ambientali (stress termico cronico e termoneutro) × 2 sessi (maschi e femmine). I polli alimentati con la dieta C6 hanno mostrato un peso corporeo finale, accrescimento giornaliero e assunzione di mangime inferiore, ma con una resa maggiore del petto e del *P. major* rispetto ai polli alimentati con la dieta controllo. I trattamenti dietetici non hanno influenzato significativamente la frequenza delle miopatie, ad eccezione di una minore presenza di wooden breast nei polli alimentati con la dieta C6, che ha anche mostrato un più alto tasso di acidi grassi n-3 e una diminuzione del rapporto n-3 / n-6. Infine, l'inclusione dietetica delle microalghe ha portato ad una colorazione della carne più rossa e più gialla. Per quanto riguarda l'effetto del sesso, l'accrescimento e il consumo medio giornaliero sono risultati maggiori nei maschi rispetto alle femmine, mentre le femmine hanno avuto un rapporto di conversione alimentare migliore. Inoltre, i maschi hanno presentato delle carcasse più pesanti e una maggiore resa degli arti inferiori, mentre la resa di macellazione è minore. Inoltre, la percentuale di incidenza di spaghetti meat nel petto è significativamente maggiore nelle femmine rispetto ai polli maschi (28,9% vs 7,78%;  $P < 0.001$ ).

In quanto alla temperatura di allevamento, l'assunzione di mangime e la resa in petto è risultata inferiore nei polli sottoposti a stress termico (38,4% vs 39,7%;  $P < 0,01$ ), mentre il pH della, perdite

di cottura sono risultati superiori; alla texture profile analysis, l'indice di chewiness è risultato superiore nella carne degli stessi animali.

In conclusione, l'inclusione alimentare del 3% di *C. vulgaris* non ha avuto effetti negativi né positivi sulle prestazioni, mentre l'inclusione al 6% ha ridotto le prestazioni di crescita e aumentato il rapporto di acidi grassi n-3. L'inclusione alimentare delle microalghe, sia al 3 che al 6%, potrebbe essere una strategia utile nella modificazione del colore della carne a causa della presenza di xantofille nelle microalghe. Infine, le alte temperature ambientali hanno avuto un impatto negativo sulle prestazioni degli animali, in particolare nel periodo finale, questo effetto non è stato influenzato dall'inclusione alimentare di *C. vulgaris*.

## Abstract

The global demand for animal-based products is consistently rising due to population growth, increased average incomes, and continuous urbanization. Consequently, there is a growing need for protein raw materials for feeding of livestock. Among the various alternative and sustainable protein sources being evaluated, microalgae have been identified as a feed ingredient able to provide animals with polyunsaturated fatty acids, microelements, vitamins, antioxidants, besides proteins. The inclusion of microalgae in the poultry diet has shown benefits in terms of enhanced immunity, productive performance, and meat and egg quality.

Thus, the present thesis aimed to evaluate the effect of the dietary inclusion of *Chlorella vulgaris* at two levels (3% and 6%) on performance, carcass traits, and meat quality of broilers chickens of the two sexes farmed under thermoneutral or chronic heat stress conditions. A total of 576 Ross 308 chickens, half males and half females, were farmed from 1 to 42 d of age. The chickens were randomly allocated among 36 pens in two temperature-controlled rooms of the poultry house of the University of Padova (18 pens per room; 16 chickens per pen) according to the three-factorial experimental arrangement with 3 dietary treatments (diets C0, C3 and C6 with 0%, 3% and 6% of *C. vulgaris*, respectively), 2 room temperatures (thermoneutral and chronic heat stress) × 2 sexes (males and females). Chickens fed diet C6 had lower final body weight, weight gain, and feed intake, but higher breast and *P. major* yield in comparison to those fed the control diet. The dietary treatments did not significantly affect the frequency of myopathies, except for a lower occurrence of wooden breasts in chickens fed the diet C6, which also showed a higher rate of n-3 fatty acids and a decreased n-3/n-6 ratio. Finally, the dietary inclusion of microalgae resulted in redder and more yellow meat.

Regarding sex, males showed higher growth and feed intake than females, whereas the latter had a better feed conversion ratio. Males had also heavier carcasses and higher hind leg proportion and lower dressing percentage, breast, and *P. major* muscle yields than females. Moreover, the rate of spaghetti meat breast was significantly greater in females than in male chickens (28.9% vs. 7.78%;  $P < 0.001$ ).

As for the environmental temperature, chickens exposed to chronic heat stress had lower feed intake, breast yield (38.4% vs. 39.7%;  $P < 0.01$ ) and higher meat pH, and cooking losses compared to the other group. The texture profile analysis revealed a higher chewiness in the meat of the former birds.

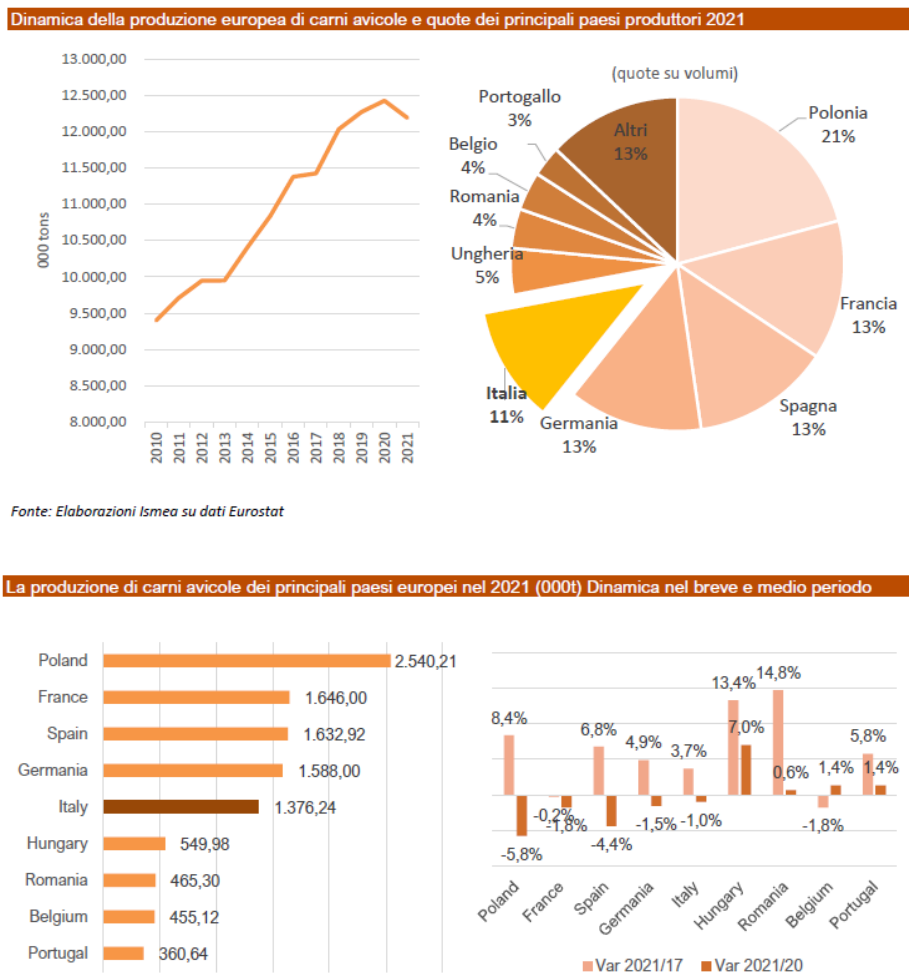
In conclusion, the dietary inclusion of 3% *C. vulgaris* did not have adverse nor positive effects on performance, whereas the inclusion at 6% reduced growth performance and increased of the ratio of

n-3 fatty acids. The dietary inclusion of the microalgae, both at 3 and 6%, could be a useful strategy in manipulating meat colour due to the presence of xanthophylls in microalgae. Finally, under our conditions, while high environmental temperatures negatively impacted animal performance, particularly in the final period, this effect was not mitigated by the dietary inclusion of *C. vulgaris*.



## Introduzione

Nel decennio 2010-2020 la produzione europea di carne avicola ha avuto una crescita costante. Nel 2021, l'Europa ha confermato la sua posizione di esportatore netto di carni avicole, mantenendo inalterate le quantità di carni occorrenti per l'autosufficienza alimentare, i.e. 12,2 milioni di tonnellate (Figura 1) (ISMEA, 2022). L'Europa è uno dei principali produttori di carni avicole, al terzo posto a livello globale, con la Polonia primo produttore di carni avicole per una quota di mercato che rappresenta oggi il 21% del totale europeo. Oltre alla Polonia, i paesi europei che hanno avuto una crescita produttiva negli ultimi dieci anni sono Romania e Ungheria, con un aumento del 61% e 43% delle produzioni, rispettivamente (ISMEA, 2022). La Spagna resta un grande mercato in espansione con una crescita della produzione del 27% negli ultimi dieci anni (Figura 1) (ISMEA, 2022).



Fonte: Elaborazioni Ismea su dati Eurostat

Fonte: Elaborazioni Ismea su dati Eurostat

**Figura 1.** Dinamica della produzione europea di carni avicole e quote dei principali paesi produttori (ISMEA 2022).

In quanto all'Italia, il nostro paese si colloca al quinto posto nelle produzioni europee, coprendo l'11% della produzione. A causa della saturazione del mercato, la crescita delle produzioni è a un ritmo meno sostenuto rispetto agli altri paesi, seppure con una continua innovazione delle tecnologie produttive, un miglioramento della qualità e la sostenibilità degli allevamenti e, di conseguenza, delle qualità delle carni prodotte (ISMEA, 2022).

In Italia risultano presenti circa 137 milioni di avicoli domestici, allevati in 6800 aziende professionali, con oltre 250 capi per azienda (ISMEA, 2022). La metà degli avicoli allevati è rappresentata da polli da carne, il 38% da galline ovaiole, il 5% da tacchini da carne e il 7% da specie minori, come faraone, quaglie, oche e anatre. Le regioni più vocate alla produzione avicola sono Veneto, Lombardia ed Emilia-Romagna. Solo nella regione Veneto sono allevati un terzo dei polli da carne prodotti a livello nazionale con oltre 24 milioni di polli allevati in 700 allevamenti di grandi dimensioni e con un alto grado professionalità. Il numero di capi allevati risulta incrementato del 2% nell'anno 2017 rispetto ai capi allevati nell'anno 2021, con una maggior incremento di capi di galline ovaiole +6,9% e con una diminuzione di capi di tacchini da carne già in continua discesa -41%. Per quanto riguarda i polli da carne, il patrimonio di capi è diminuito leggermente -1% per i numerosi casi di influenza aviaria, soprattutto nel Veneto in cui sono localizzati 24% degli allevamenti nazionali (ISMEA, 2022).

La produzione italiana di carne avicola si caratterizza per un equilibrio tra offerta e domanda interna. Nel 2021, i consumi apparenti si sono attestati sulle 1266 tonnellate per un consumo pro capite di 21,4 kg. Il grado di autosufficienza è aumentato al 109%, a vantaggio del saldo commerciale di 217 milioni di euro in valore, grazie all'aumento del export delle carni avicole del 15% (ISMEA, 2022).

Inoltre, nel 2021 i prezzi dei prodotti avicoli hanno avuto un forte aumento, considerati i vari eventi che dal 2020 hanno reso instabile un mercato consolidato. La ripresa della domanda mondiale dopo l'ondata pandemica ha provocato conseguenze logistiche tra i principali scambi mondiali di materie prime di origine animale; gli aumenti vertiginosi del costo dei trasporti, delle materie prime agricole ed energetiche hanno portato ad un aumento record dei costi che si riversato nell'aumento del costo dei prodotti alimentari, nell'aumento della domanda cinese di materie prime come mais e soia con la ripresa della suinicoltura dopo la peste suina africana; la contrazione dell'offerta nella filiera avicola per restrizioni adottate negli allevamenti dopo i vari focolari di influenza aviaria. Infine, la crisi tra Russia e Ucraina ha ulteriormente contribuito alla crescita dei prezzi dei mercati mondiali (ISMEA, 2022).

## **Tecnica di allevamento del pollo da carne**

L'avicoltura ha avuto una continua evoluzione nel corso degli anni con un particolare attenzione alla standardizzazione dell'allevamento intensivo del pollo. Gli animali allevati sono selezionati e derivano da linee genetiche ad elevato grado di omozigosi per i caratteri di interesse che incrociati permettono di ottenere ibridi commerciali in grado di raggiungere pesi elevati con un basso indice di conversione in condizioni ambientali ottimali come quelle degli allevamenti intensivi.

Come descritto nel capitolo sull'allevamento del pollo da carne di Cerolini (2008), l'allevamento di questi animali, anche indicati come broiler, in Italia avviene con un sistema di allevamento a terra, con lettiera permanente formata da paglia, trucioli di legno, o lolla di riso, in modo da permettere all'animale di razzolare. La produzione nazionale distingue inoltre il prodotto in base al sesso e alla durata del ciclo di allevamento e, quindi, in base al peso degli animali alla macellazione. Generalmente, il ciclo produttivo del pollo da carne è breve, in cinque settimane è possibile avere un prodotto idoneo al commercio. In un anno, si possono realizzare più cicli di allevamento nello stesso capannone, applicando la regola del "tutto pieno-tutto vuoto" importante per la biosicurezza negli allevamenti (Cerolini, 2008).

In relazione alla gestione degli animali, al momento dell'accasamento i pulcini di un giorno devono essere contenuti in un luogo delimitato all'interno dell'ambiente di allevamento grazie a sistemi riscaldanti, ad esempio le lampade a infrarossi, che riscaldano adeguatamente l'ambiente intorno ad essi; le fonti di calore devono essere posizionate correttamente in modo che i pulcini ricevano il giusto calore nei primi giorni di vita. Gradualmente, con il passare dei giorni dopo l'accasamento, i sistemi di riscaldamento vengono sollevati fino alla completa eliminazione alla quarta settimana di vita degli animali, momento in cui gli animali sono in grado di termoregolare.

Un fattore fondamentale nell'allevamento del pollo è l'alimentazione. Tutti i soggetti devono poter accedere alla mangiatoia contemporaneamente, evitando ogni competizione. Il numero delle mangiatoie deve essere dimensionato correttamente in base ai capi presenti, pena un insufficiente ritmo di crescita e una bassa uniformità dei capi allevati. Le mangiatoie dovrebbero riempirsi automaticamente. Inoltre, per ridurre gli sprechi, il mangime presente in mangiatoia dovrebbe essere completamente consumato, almeno tre o quattro volte al giorno, per stimolare l'appetito degli animali. Le tipologie di mangiatoie più utilizzate negli allevamenti intensivi sono quelle di tipo circolare a tramoggia oppure quelle di tipo lineare a canaletta. Un fattore importante per evitare gli sprechi e per consentire un'adeguata alimentazione degli animali è l'altezza delle mangiatoie che devono essere disposte lungo la linea dorsale dell'animale (Cerolini, 2008).

L'acqua di abbeverata fresca e pulita deve essere sempre a disposizione degli animali dato che i volatili consumano molta acqua durante la loro vita e si stima che il fabbisogno medio di un pollo sia circa 100 ml/kg di peso vivo. Il consumo di acqua giornaliero all'interno dell'ambiente di allevamento è un indicatore dello stato di benessere degli animali ed è un indicatore di un adeguato consumo alimentare. Il consumo di acqua e il consumo di mangime sono in rapporto a 1,8-2,0 quando la temperatura ambientale è di 20-21°C; il valore di questo rapporto aumenta all'aumentare delle temperature ambientali. La somministrazione dell'acqua di abbeverata deve avvenire ad una temperatura che varia dai 10 ai 14°C; temperature troppo elevate o troppo basse potrebbero compromettere i consumi alimentari e la crescita. Gli abbeveratoi maggiormente usati sono quelli a goccia, a pressione, con o senza tazzina sottostante per la raccolta dell'acqua. Questi ultimi sono i più utilizzati per ridurre gli sprechi e ridurre le contaminazioni batteriche. Come le mangiatoie, anche gli abbeveratoi durante la fase di accrescimento devono essere gradualmente alzati per consentire una corretta abbeverata dei polli in funzione della loro dimensione.

Per mantenere un ambiente adeguato di allevamento e aumentare lo stato di benessere degli animali, la lettiera deve essere distribuita uniformemente in tutta l'area di stabulazione con uno spessore che varia dai 3 cm ai 10 cm, in funzione della durata del ciclo di allevamento, in modo da assorbire l'umidità delle feci. La lettiera è costituita con truciolo di legno bianco, paglia trinciata, lolla o pula di riso. Questi materiali, se distribuiti in quantità idonee, permettono di mantenere asciutti gli animali durante l'intero ciclo di allevamento, mantenendo un'umidità costante del 30-35%. Nel caso in cui la lettiera non sia adeguata, si può verificare l'insorgenza di infiammazioni della cute del piede e dei tarsi che provocano sofferenze agli animali e limitando il movimento. Possono insorgere anche vesciche sternali che rovinano il petto dell'animale determinando scarto della carcassa al macello.

Durante l'intera durata dell'allevamento è fondamentale tenere sotto controllo diversi parametri ambientali per preservare al meglio la salute dei polli allevati. I parametri ambientali da osservare e modificare all'occorrenza sono temperatura, umidità relativa, luce e qualità dell'aria. La temperatura dovrà essere modificata partendo dai 30°C all'accasamento dei pulcini per diminuire dopo i primi due giorni di un grado ogni tre giorni, arrivando fino a 21°C intorno ai 26-28 giorni di vita dei polli. La temperatura dovrà essere costantemente osservata per evitare stress termico agli animali che potrebbero compromettere le attività metaboliche degli animali e ridurre l'ingestione di alimento, e di conseguenza la crescita, con un peggioramento dell'indice di conversione. Nel caso in cui la temperatura ambientale superi i 30°C il calore disperso per evaporazione aumenta e gli animali vanno incontro ad una situazione di polipnea, condizione insostenibile per lunghi periodi.

Mantenere un'umidità relativa all'interno dell'ambiente di allevamento consente agli animali la maggiore crescita e lo sviluppo adeguato della livrea, aumentando l'efficacia del loro sistema di termoregolazione verso lo stress ambientale. I valori raccomandati si aggirano attorno al 60-70%; un'umidità maggiore, attorno al 70%, deve essere garantita durante i primi giorni dell'accasamento dei pulcini per evitare disidratazione e mancata crescita dell'animale.

Il programma luminoso attuato maggiormente in passato negli allevamenti di pollo da carne prevedeva 23 ore di luce e un'ora di buio. L'ora di buio non consentiva il riposo degli animali, ma piuttosto che questi fossero abituati ad eventuali interruzioni improvvise dell'illuminazione. La direttiva sulla protezione dei polli da carne 2007/43/CE prescrive che il fotoperiodo deve prevedere nelle 24 ore un periodo di oscurità di sei ore e di queste almeno quattro devono essere consecutive. Queste indicazioni valgono dal settimo giorno di età fino ai tre giorni prima della macellazione. L'intensità luminosa deve essere di almeno 20 lux, misurata a livello dell'occhio dell'animale e uniforme in tutto lo spazio adibito alla stabulazione degli animali. In passato erano possibili anche altri programmi luminosi alternativi, con fotoperiodi intermittenti, alternando più volte nel corso delle 24 ore, periodi di illuminazione e periodi di oscurità. Questi programmi permettevano di non ridurre eccessivamente l'assunzione di alimento da parte degli animali e non aggravare le performance di crescita; richiedevano un numero maggiore di mangiatoie ed abbeveratoi per gli animali in modo che tutti potessero alimentarsi contemporaneamente. L'uso di programmi di fotoperiodo intermittente era associato a buone performance di crescita degli animali, migliorava la conversione alimentare e riduceva gli sprechi, aumentava l'attività motoria nelle ore di luce e quindi migliorava benessere e salute degli animali.

Per mantenere un buon ricircolo d'aria e una buona qualità dell'aria all'interno dell'ambiente di allevamento, si ricorre a sistemi di ventilazione artificiale o naturale, in grado di allontanare il calore, umidità, gas e prodotti nocivi come ammoniaca e monossido di carbonio e polverosità eccessiva. La direttiva 2007/43/CE definisce i limiti che riguardano la concentrazione di ammoniaca nell'aria, che non deve superare 20 ppm, e la concentrazione del livello di anidride carbonica che non deve superare i 3000 ppm, misurati all'altezza della testa degli animali. Una concentrazione eccessiva di questi gas danneggia le vie respiratorie dei soggetti. La ventilazione minima da apportare definisce il ricambio minimo d'aria in grado da apportare una quantità di ossigeno sufficiente a tutti gli animali all'interno del capannone, garantita in ogni momento della vita dei soggetti; la ventilazione massima viene definita come l'aria che deve essere ricambiata per eliminare il calore eccessivo all'interno del locale di allevamento facendo in modo che la temperatura interna non superi di tre gradi quella esterna.

Un altro fattore importante nell'allevamento del pollo da carne è la densità dei capi all'interno del locale di stabulazione. La densità dipende dal peso vivo degli animali alla macellazione, dall'età in cui vengono macellati, dalla stagione, dal clima, dal tipo di struttura zootecnica, dai sistemi di raffrescamento e riscaldamento, dalle attrezzature per l'alimentazione e l'abbeverata. La direttiva 2007/43/CE definisce una densità massima di allevamento pari a 33 kg di peso vivo alla macellazione/m<sup>2</sup>. Nel caso in cui l'allevatore presenti all'autorità competente la documentazione adeguata, la densità può essere aumentata fino a 39 kg peso vivo/m<sup>2</sup> e fino 42 kg quando l'autorità competente lo permetta, l'allevamento abbia sempre rispettato le norme della direttiva negli ultimi due anni e per sette cicli consecutivi, la mortalità giornaliera cumulativa non abbia mai superato l'1%+0,06% moltiplicato per l'età in giorni in cui gli animali vengono macellati. In generale, densità di allevamento superiori ai 30 kg/m<sup>2</sup> possono avere effetti negativi anche in base alla lettiera e ai sistemi di raffrescamento adottati.

## **Alimentazione del pollo da carne**

I polli da carne selezionati per elevata velocità di accrescimento e resa in petto oggi allevati hanno bisogno di crescere in un sistema in cui tutti i fattori di produzione sono ottimizzati per esprimere pienamente le loro potenzialità. In questo senso, l'alimentazione è un fattore che incide molto nelle performance di crescita, oltre che essere la componente più importante del costo di produzione del pollo, come riassunto nel manuale Aviagen (2018). I soggetti selezionati e dotati di una rapida crescita hanno un'elevata capacità di ingestione e di conversione in carne. Per questo, i mangimi devono essere formulati dai tecnici dell'industria mangimistica in maniera tale da apportare il giusto quantitativo di energia, proteine, aminoacidi, minerali, vitamine, acidi grassi, per garantire le migliori performance produttive e i migliori risultati economici.

Nei casi più semplici, il programma di alimentazione dei polli da carne prevede tre tipologie di mangime: starter, crescita, e finissaggio. I mangimi starter hanno l'obiettivo di stimolare l'appetito dei pulcini che devono raggiungere il giusto peso previsto al settimo giorno di età e sono somministrati per almeno dieci o quattordici giorni dall'accasamento degli animali; devono avere livelli di proteina e aminoacidi tali da permettere ai pulcini di crescere regolarmente e in maniera precoce, caratteristica molto importante per gli allevamenti in cui si producono polli leggeri e negli allevamenti in cui si attribuisce al petto un valore importante.

I mangimi per la crescita vengono somministrati dai 14-16 giorni di vita, dopo aver gradualmente sostituito il mangime starter somministrato nella prima fase alimentare. Nel momento in cui viene cambiata la tipologia di mangime da quello starter a quello di accrescimento, anche la forma fisica

del mangime è modificata da uno sbriciolato a un pellet con diversa composizione chimica e valore nutrizionale. Il mangime di finissaggio viene somministrato agli animali dopo i 22-25 giorni di vita, quando si deve prestare attenzione alla deposizione di grasso e alla crescita del petto. In base alla tipologia di prodotto che si vuole ottenere, in funzione della durata del ciclo di allevamento, alimentazione, e disponibilità del mangimificio, si possono somministrare diverse tipologie di mangime di finissaggio.

Le materie prime che si utilizzano per la formulazione e produzione dei mangimi devono essere di alta qualità, rispettando caratteristiche fisiche, chimiche, microbiologiche, igieniche. Per i prodotti di origine vegetale, come i cereali che durante lo stoccaggio possono essere contaminati da attacchi fungini con produzione di micotossine, questi e altri eventuali composti tossici per gli animali devono essere monitorati e controllati anche secondo le indicazioni di legge.

## **Materie prime convenzionali**

Le diete per avicoli sono formulate con elevati livelli di inclusione di cereali, come granoturco, oltre che farine proteiche di tipo vegetale, prevalentemente dalla soia. Per aumentare l'energia della dieta sono usati anche oli vegetali e grassi animali. La formulazione delle diete è definita in base alla disponibilità delle materie prime occorrenti, con sostituzione delle varie componenti basandosi alla variazione dei prezzi di mercato.

Nelle diverse situazioni geografiche, le materie prime maggiormente utilizzate sono: granoturco, frumento, sorgo, orzo, avena, borlande di cereali essiccate, farina di glutine di mais, semola glutinata di mais, pula o farinaccio di riso, crusca di frumento, farina di colza, farina di cotone, farina di estrazione di girasole, farina di estrazione di soia, farina di nocciolo di palma, farina di cocco.

Il frumento è maggiormente usato nei paesi dove il granoturco non è coltivato o non è facilmente disponibile. Rispetto al mais apporta una quantità di proteina grezza maggiore e minore di energia. Ha una percentuale di amido intorno al 55%, molto utile durante la pellettizzazione del mangime per l'elevata gelatinizzazione dell'amido in questa operazione. Il frumento, tuttavia, ha un minore contenuto di xantofille rispetto al mais; quindi, è poco adatto per la produzione di polli a pelle gialla. Il contenuto di vitamina A e biotina è minore rispetto al mais.

Il granoturco è la fonte di energia più importante per la composizione delle diete per avicoli, contiene una percentuale di energia molto alta rispetto agli altri cereali, ma con un contenuto proteico minore. Il valore nutritivo, soprattutto l'energia metabolizzabile, è molto influenzato dalle condizioni al momento della raccolta, durante l'essiccazione e lo stoccaggio. Il contenuto di xantofille è molto

variabile in base alla varietà utilizzata. Il contenuto di olio, altamente digeribile soprattutto rispetto agli acidi grassi insaturi come acido linoleico, è diverso con la varietà utilizzata; la presenza di olio nel prodotto deve essere considerata per valutare l'eventuale aggiunta di altri grassi nella dieta degli avicoli. Il profilo amminoacidico del granturco è inferiore rispetto al frumento. Una problematica molto rilevante per l'utilizzazione del granturco all'interno delle diete per tutti gli animali allevati, sono le micotossine eventualmente presenti. Le più frequenti sono aflatossina, tossina T-2, e zearalenone.

Il sorgo è un cereale molto utilizzato nelle regioni in cui c'è una scarsa disponibilità di frumento e mais come fonti energetiche. Esistono molte varietà di sorgo coltivate nel mondo e vengono utilizzate in base alla quantità di tannini che si trovano all'interno; infatti, i tannini hanno un'influenza negativa sul consumo alimentare degli avicoli, portando ad una diminuzione della digeribilità. Rispetto al mais, il sorgo ha un valore nutritivo inferiore del 5%, ma l'apporto di energia è superiore rispetto a quella del frumento. La lavorazione della granella di sorgo è fondamentale per ottenere un mangime di ottima qualità, e la granella deve essere macinata finemente in modo che non ci siano dei grani interi indigeribili da parte degli animali. Il sorgo non contiene xantofille.

L'orzo viene maggiormente usato per produzione del malto, ma in certi paesi viene coltivato anche per essere utilizzato nell'alimentazione animale. Il contenuto proteico varia dal 6 al 13% e la percentuale di amido è intorno al 45% per un apporto energetico minore rispetto a frumento e granturco. L'alto contenuto di fibra e la presenza di beta-glucani lo rendono un alimento poco digeribile per gli avicoli; ha un basso contenuto di lisina e vitamine A, D, E, e calcio. Per queste caratteristiche non può essere introdotto nelle diete degli avicoli come unica fonte energetica ma miscelata con altri cereali in modo da poter sopperire tutte le mancanze amminoacidiche e vitaminiche.

L'avena è un cereale autunno-vernino che tollera i climi freddi; infatti, è utilizzato nei paesi dell'Europa del nord e il Canada. Ha un alto contenuto di fibra e un basso contenuto di amido, circa il 35%; contiene una proteina di maggiore valore biologico rispetto ad altri cereali.

Le borlande di cereali essiccate derivano dalla produzione dell'etanolo, vengono maggiormente utilizzate nelle diete dei ruminanti, ma si possono includere anche nelle diete per avicoli. Le loro proprietà nutrizionali dipendono soprattutto dal processo di essiccazione, che influenza la digeribilità delle proteine come la lisina. Il contenuto di energia metabolizzabile varia in base all'essiccazione del prodotto e dipende dal contenuto di grasso e fibra. La qualità delle borlande viene determinata dalla colorazione di esse; quelle di colorazione più scura contengono proteina meno digeribile rispetto alle



borlande di colore chiaro. Le borlande rispetto ai cereali come granoturco e frumento apportano una quantità di fosforo totale e disponibile maggiore, oltre che una certa quantità di sodio derivante dall'aggiunta di cloruro di sodio durante l'essiccazione.

La farina di glutine di mais è un sottoprodotto della lavorazione del mais per la produzione di amido; durante la lavorazione viene separato l'amido ed il glutine, l'amido viene lavato eliminando le ultime tracce proteiche ottenendo un composto puro, mentre la frazione con il glutine viene fatta essiccare raggiungendo un'umidità del 10%, ottenendo così un prodotto con un'alta percentuale di proteina circa il 60% e, quindi, alti livelli di metionina e bassi di lisina e triptofano. La digeribilità di questo prodotto è molto alta; infatti, si considera un alimento molto energetico; ha un alto contenuto di xantofille (200-500 ppm) se deriva da una varietà di mais ricca di xantofille. La semola glutinata di mais è formata dalla frazione rimanente dell'amido, del glutine e del germe. La sua composizione chimica è molto variabile in base alla macinazione, al contenuto delle varie frazioni di germe, glutine e amido. Di norma, la semola glutina di mais ha un alto contenuto di fibra circa 8% e una moderata quantità di proteina 22%, con un contenuto di grassi intorno al 2,5%. Ha un basso contenuto di proteina e aminoacidi per cui può essere utilizzato per i mangimi per riproduttori.

Fra i sottoprodotti dei cereali, pula di riso e crusca di frumento sono utilizzate a livelli di inclusione molto bassi per gli avicoli e mai per i polli da carne, considerato il loro elevato contenuto di fibra.

Rispetto alle fonti proteiche, la farina di soia viene prodotta dall'estrazione dell'olio dai semi della soia decorticati e un ulteriore trattamento termico durante le fasi di lavorazione per eliminare i fattori antitripsinici che ridurrebbero la digeribilità della proteina. È la materia prima proteica più utilizzata in alimentazione animale, contiene proteine di alta qualità (valore biologico). L'alto valore di lecitina consente di veicolare la vitamina A e apportare fosforo organico e colina all'organismo. Il contenuto di proteina della soia classica nazionale è del 44-45% (Lameri, 2022).

La farina di girasole è comunemente usata in sostituzione alla farina di soia. Il contenuto di proteina grezza varia dal 25% al 35%; la frazione proteica ha una digeribilità elevata con alti livelli di metionina, triptofano e cisteina, ma bassi livelli di lisina. La farina di girasole è un'importante fonte di calcio e fosforo e vitamine del gruppo B. Per essere utilizzata nell'alimentazione degli avicoli non deve superare il 5% di inclusione per l'elevata percentuale di fibra ed il basso apporto energetico.

Per le altre fonti proteiche, meno utilizzate nelle nostre condizioni, la farina di colza deriva dalla estrazione dell'olio dalla spremitura dei semi; rappresenta un'ottima fonte proteica inserita nei mangimi per polli da carne. Il contenuto proteico varia dal 34-38% con un buon valore biologico. Tuttavia, la presenza di fattori antinutrizionali, come acido erucico, tannini, sinapine, e glucosinolati,

ne limita l'utilizzo nelle razioni alimentari. Per questo, sono coltivate varietà di colza con un basso quantitativo di acido erulico e glicosinati. La farina di cassava, o manioca, viene altamente coltivata e utilizzata nei paesi tropicali, in sostituzione al mais o frumento. È una materia prima molto energetica e viene utilizzata in scaglie o in pellet. Ha un contenuto di amido altamente digeribile del 60-70%, un basso contenuto proteico (2,5%), non contiene xantofille o altri carotenoidi pigmentanti. Nel prodotto fresco è contenuto un fattore anti-nutrizionale, la linamarina, rilasciato durante i processi di lavorazione del prodotto ed è idrolizzato in glucosio ed acido cianidrico (HCN) dall'enzima limerasi, presente nella radice. La farina di cotone viene prodotta dalla lavorazione dei semi dall'estrazione dell'olio. È un'ottima fonte proteica (40-42%), ma non viene molto utilizzata per la presenza massiccia di fattori antinutrizionali, quali il gossipolo. Questo è un pigmento che si trova nel seme del cotone, legandosi al ferro nel sangue e nel tuorlo delle uova causa problemi di carenza di ferro e produzione di uova depigmentate; inoltre inibisce l'azione della pepsina e della tripsina nel lume intestinale. Un contenuto elevato di gossipolo è stato associato ad una diminuzione della produzione e ad un aumento della mortalità.

### **Materie prime alternative, le alghe**

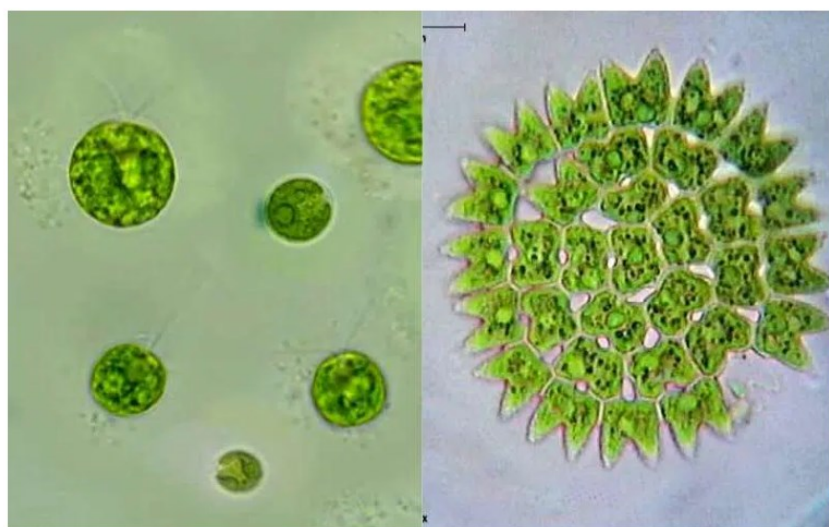
Considerato l'aumento della popolazione a livello globale, si stima un aumento della domanda di prodotti di origine animale del 73% entro il 2030 (Herrero, 2013). Di conseguenza aumenta la necessità di materie prime vegetali per la produzione di carne, latte, uova. D'altra parte, le pratiche agricole intensive per la produzione di materie prime vegetali possono innescare un circolo vizioso non sostenibile dal punto di vista ambientale (Aiking e de Boer, 2020).

Per soddisfare la richiesta di materie prime proteiche da parte dell'uomo e dell'animale (come food e feed), sono allo studio alternative che riescano a sostituire del tutto o in parte alimenti proteici, come la soia. Queste fonti proteiche sono rappresentate da insetti, proteine microbiche, e le alghe che rispetto alle fonti proteiche che derivano dalla zootecnia hanno un'impronta di carbonio minore (Costello et al., 2020). Tra le altre fonti proteiche, gli insetti richiedono maggiori studi sulla sicurezza e sulle tecniche di allevamento. Utilizzate come integratori alimentari, le proteine microbiche o proteine unicellulari derivano da diverse specie di funghi, lieviti, muffe, e cianobatteri; sono approvate anche dalle agenzie di regolamentazione alimentare globale, ma non sono chiarite le questioni legate alla sicurezza ed alla possibile potenzialità allergenica (Bratosin et al., 2021).

Infine, le microalghe sono un prodotto interessante per la loro capacità di sopravvivere e moltiplicarsi in acque non potabili, potendo sfruttare anche zone di interesse rurale non pienamente utilizzabili. Inoltre, hanno il maggiore potenziale fotosintetico e una maggiore produzione rispetto alle piante

attualmente coltivate nell'ecosistema agrario (Larkum et al., 2010). Le microalghe sono in grado di convertire il 6% della radiazione che incide su di esse e l'anidride carbonica in biomassa di nuova formazione. Sono microalghe gli organismi fotosintetici unicellulare che popolano mari, fiumi e laghi. Questi organismi sintetizzano gli zuccheri e l'energia necessaria alla loro sopravvivenza partendo dall'energia solare. Da molti anni sono considerate come delle biofabbriche verdi perché in grado di utilizzare l'anidride carbonica e l'energia solare producendo composti organici di noto interesse per le attività umane e animali. Sono coltivate sempre più su larga scala per essere utilizzate come alimento per crostacei e larve di pesci nel settore dell'acquacoltura; nel campo farmaceutico per l'elevata quantità di cellule bioattive contenute in esse; nel campo nutraceutico per le caratteristiche nutrizionali; in ambito ambientale per la depurazione delle acque, dei suoli, e l'aria dagli inquinanti; e, infine, nel campo delle bioenergie per l'elevata quantità di oli e per la produzione di idrogeno. Le microalghe possono avere un elevato contenuto proteico fino al 60-70%, un buon contenuto di carboidrati, iodio, ferro, calcio, vitamine A, B1, B2, B12, e C, e circa il 10-12% di grassi. La composizione nutrizionale delle microalghe dipende dalla specie, dal ceppo selezionato, e dalla tecnologia di coltivazione. Dalle alghe si possono estrarre molti prodotti funzionali per l'uomo, come oligoelementi, vitamine, carotenoidi, acidi grassi polinsaturi delle serie n-3 ed n-6 (Bruno e Congestri, 2022).

Le microalghe vengono classificate in alghe unicellulari, che comprendono alghe giallo-brune (*Chrysophyta*) alle quali appartengono le diatomee (*Bacillariophyceae*) e alghe dinoflagellate (*Dinophyta*); e alghe pluricellulari (Figura 2), suddivise in alghe verdi (*Chlorophyta*), alghe rosse (*Rhodophyta*) e alghe brune (*Phaeophyta*) (Food Hub 2022).



**Figura 2.** Alghe unicellulari a sinistra e alghe pluricellulari a destra (Food Hub, 2022).

Tra le diverse specie di microalghe esistenti, quelle per le quali sono disponibili maggiori studi, utilizzi nel campo zootecnico e quelle ammesse al commercio e all'utilizzo alimentare all'interno dell'Unione Europea sono la Spirulina (*Arthrospira* spp.) e la *Chlorella* spp.

La *Arthrospira platensis* fa parte della famiglia delle alghe blu verdi. Per la tipologia di cellula di cui è formata è anche classificata nella famiglia dei cianobatteri ed esistono due specie di spirulina: *Arthrospira platensis* e *Arthrospira maxima*. La biomassa di questa alga ha un valore nutrizionale molto elevato con il 60-70% di proteine, acidi grassi, vitamine, minerali, carotenoidi per circa 7000 mg e 6000 mg di xantofille nel prodotto essiccato e liofilizzato (Anderson et al., 1991). I carotenoidi di Spirulina, particolarmente beta carotene, determinano la pigmentazione delle carni degli animali che ricevono questo alimento (Toyomizu et al., 2001; Sánchez et al., 2003). Tra gli acidi grassi, la spirulina presenta un alto contenuto di acido gamma-linolenico variabile dal 12,9% al 29,4% degli acidi grassi totali. La Spirulina ha inoltre una buona percentuale di vitamina B<sub>12</sub>, adatta quindi per trattamenti contro anemia perniziosa. Tra i carboidrati contenuti nella Spirulina essiccata (circa 13,6%), si ritrovano glucosio, ramnosio, mannosio, xilosio, e galattosio (Shekharam et al., 1987). La parete cellulare della Spirulina non contiene cellulosa e quindi non richiede la degradazione batterica. Alcuni studi in alimentazione umana hanno dimostrato che la Spirulina ha effetti sul miglioramento dell'iperlipidemia, l'ipertensione, e l'insufficienza renale. Inoltre, promuove lo sviluppo dei *Lactobacillus* spp. a livello intestinale con diminuzione del livello di glucosio nel sangue; ha infine proprietà antitumorali e antivirali.

*Chlorella vulgaris* è un'alga verde unicellulare che appartiene al phylum *Chlorophyta*. Contiene pigmenti fotosintetici di colore verde, clorofilla, e anche altri pigmenti, come luteina, astaxantina e beta-carotene (Mendes et al., 2003; Gyenis et al., 2005). Questa alga contiene una buona percentuale di nutrienti come proteine, grassi, e vitamine, inclusi acidi grassi polinsaturi, ad esempio EPA, fino al 39,9% degli acidi grassi totali. In particolare, per *C. vulgaris* è stato misurato un contenuto del 62% di proteine, 13% di grassi, 14% di carboidrati, oligoelementi (alluminio, selenio, fosforo, zinco, calcio e magnesio) e vitamine (tiamina, B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, B<sub>6</sub>, acido ascorbico, D, E e K) (Blas-Valdivia et al., 2011). *Chlorella* spp. è ricca di fosforo (1761 mg), sodio (1346 mg), potassio (750 mg), calcio (594 mg), magnesio (344 mg) e ferro (259 mg).

In nutrizione umana è stata misurata un'azione antibatterica e antivirale della *C. vulgaris* oltre che un'azione positiva sulla prevenzione dello stress ossidativo. Inoltre, è stato osservato che la somministrazione di *C. vulgaris* produce una riduzione del glucosio ematico e aumenta il contenuto di emoglobina, agisce come ipocolesterolemico ed epatoprotettivo (Yamaguchi, 1996); La somministrazione di microalghe agli anziani o agli animali protegge dalle malattie, in particolare

l'ipertensione cardiaca o l'iperlipidemia. Inoltre, è stato anche dimostrato che *C. vulgaris* ha proprietà immunomodulanti e antitumorali (Janczyk et al., 2007).

In zootecnia, le microalghe sono state utilizzate per l'alimentazione di suini, ruminanti, avicoli, e conigli (Figura 3) In effetti, il 30% della produzione mondiale della microalga viene utilizzata per l'alimentazione animale (Becker, 2007). I costi di produzione e le tecnologie attualmente utilizzate per la loro produzione limitano l'impiego di microalghe nell'alimentazione animale; le microalghe vengono ancora prodotte in scala ridotta con passaggi, ad esempio l'essiccazione, che richiedono un elevato dispendio di energie e costi associati. D'altra parte, piccole quantità di microalghe nella dieta hanno effetti positivi migliorando la risposta immunitaria, la resistenza alle malattie grazie alla loro azione antivirale e antibatterica, e la funzione intestinale. In questo modo, gli animali alimentati con microalghe possono avere ottime performance di crescita, aumentando il peso e migliorando l'indice di conversione oltre che le prestazioni riproduttive.

Le microalghe sono state utilizzate come alimenti o come integratori alimentari nelle diete dei ruminanti. Negli agnelli svezzati è stato osservato un aumento del peso corporeo senza effetti negativi sulla conversione alimentare (Holman et al., 2014; El-Sabagh et al., 2014). Nelle bovine da latte, l'aggiunta delle microalghe nella dieta non ha portato differenze di produzioni notevoli, con una diminuzione del consumo alimentare per una probabile minore appetibilità della dieta somministrata (Franklin et al., 1999).

Nei maiali alimentati con contenenti lo 0,2-2,0% di *A. platensis* sono stati riportati lievi miglioramenti delle performance di crescita (Grinstead et al., 2000). Considerato lo stato di salute degli animali e la forma fisica del mangime somministrato, la conversione alimentare dei suini alimentati con *A. platensis* può aumentare del 15-16% (Simkus et al., 2013). Il peso medio e la conversione alimentare sono rimasti inalterati con la somministrazione dell'1% di *A. platensis* e *C. vulgaris* in suinetti svezzati, mentre è stato misurato un effetto positivo sul microbiota intestinale, soprattutto con la somministrazione di *C. vulgaris*, con un controllo dei disturbi digestivi. Secondo altri autori, l'inclusione nella dieta del 0.2% di *C.vulgaris* non ha modificato crescita corporea, resa della carcassa, e spessore del grasso dorsale (Banoch et al., 2012), mentre lo 0,1% di *C. vulgaris* fermentata ha migliorato le prestazioni produttive e ridotto a livello fecale *Escherichia coli* e *Lactobacillus spp.* (Yan et al., 2012). Infine, l'integrazione con *Chlorella vulgaris* nella dieta di finissaggio di suini maschi castrati svezzati ha migliorato l'indice di conversione (Abril et al., 2003).

Nei conigli allo svezzamento, infine, l'uso di *Arthrospira platensis* nell'alimentazione non ha avuto alcun effetto negativo sulle prestazioni di crescita, mentre è aumentato il consumo di alimento (Peiretti e Meineri, 2008).

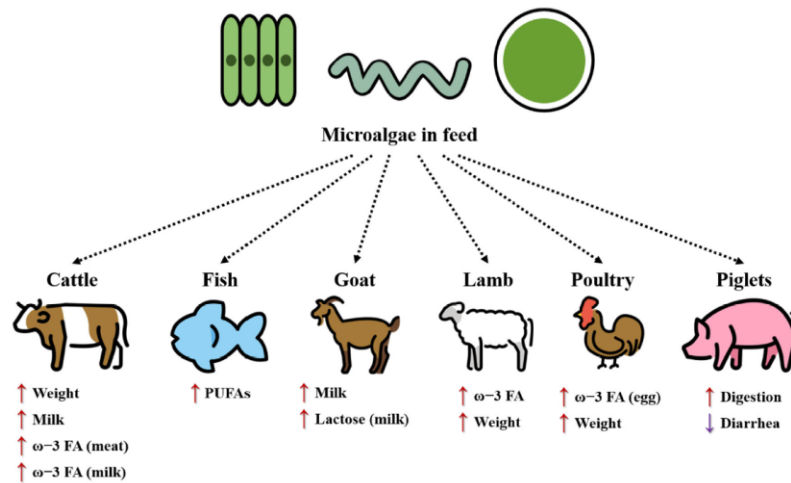


Figura 4. Microalghe utilizzate nella formulazione di mangimi e loro effetto sulla nutrizione di diversi animali. Fonti immagini: Sofie Ascherl e Selina Bauder utilizzate su licenza CC BY-SA 4.0.

**Figura 3.** Rappresentazione schematica dell'effetto delle microalghe utilizzate nella formulazione di mangimi per diverse specie animali (Amorim et al., 2021)

### Le alghe nell'alimentazione degli avicoli

Nell'alimentazione degli avicoli, le microalghe sono utilizzate come fonte proteica solitamente in sostituzione della farina di estrazione di soia. La somministrazione di microalghe può migliorare la morfologia intestinale degli animali, aumentare le prestazioni produttive e migliorare la risposta immunitaria. I prodotti degli animali cui è stata somministrata una dieta contenente alghe possono avere una stabilità ossidativa maggiore, un aumento del contenuto di acidi grassi polinsaturi e una colorazione più intensa grazie all'elevata quantità di xantofille presenti nelle microalghe.

I risultati descritti nei diversi lavori che hanno valutato l'uso delle microalghe nell'alimentazione degli avicoli sono tuttavia variabili e dipendono da molteplici fattori, quali le specie di microalghe impiegate e le loro caratteristiche nutrizionali, i livelli di inclusione, la composizione del mangime, le condizioni di stabulazione e di allevamento degli animali.

Per quanto riguarda la Spirulina, l'inclusione nella dieta fino al 16% in polli da carne non ha modificato le prestazioni di crescita, ma ha aumentato l'intensità della colorazione giallastra della carne all'aumentare del livello di inclusione, con un vantaggio dal punto di vista del consumatore (Toyomizu et al., 2001). L'inclusione dello 0,02-0,03% di Spirulina in un altro studio ha determinato

un aumento dell'indice di conversione alimentare, un aumento del peso vivo, e un miglioramento della condizione intestinale con un aumento della lunghezza dei villi intestinali (Mariey et al., 2014). È stato dimostrato che l'inclusione dell'1% di Spirulina nella dieta stimola la proliferazione linfocitaria mediata da fitoemoagglutinina e l'attività fagocitaria dei macrofagi nei polli da carne. Inoltre, si possono alleviare gli effetti negativi delle aflatoossine sul sistema immunitario e sugli organi intaccati dei polli (Mariey et al., 2014).

Nelle galline ovaiole, gli studi condotti hanno valutato soprattutto l'efficienza della Spirulina nel trasferimento dei carotenoidi per la pigmentazione del tuorlo delle uova (Anderson et al., 1991), aumentando l'intensità di colorazione dell'uovo al pari di un colorante sintetico. Inoltre, nei riproduttori, l'utilizzo dell'alga ha determinato un aumento della produzione di uova e della loro schiudibilità (Mariey et al., 2012).

In quanto alla *C. vulgaris*, questa è un valido integratore alimentare anche di riboflavina e vitamina B12 nelle diete per polli da carne. Soprattutto, la *C. vulgaris* è una fonte proteica molto efficiente che può essere somministrata fin dall'accasamento dei pulcini senza effetti negativi sulle performance di crescita dei polli da carne e anatre (Oh et al, 2015). Quando la *C. vulgaris* è stata utilizzata in sostituzione dell'antibiotico all'1% di inclusione, sono stati osservati effetti positivi sulla microflora intestinale e sulle difese immunitarie degli animali con produzione di globuli bianchi e linfociti ed aumento delle concentrazioni plasmatiche di IgA, IgM e IgG oltre che un aumento della produzione intestinale di lattobacilli (Kang et al., 2013). Gli effetti migliorativi della risposta immunitaria degli animali sono stati attribuiti alle componenti fibrose, soprattutto un polisaccaride chiamato immurella, glicoproteine e peptidi contenuti nell'alga. Infine, quando la *C. vulgaris* è stata coltivata in acque con alti contenuti di selenite, le microalghe hanno accumulato selenio che è stato trasferito nella carne degli animali alimentati con la stessa alga, aumentando l'attività del glutatione-perossidasi con effetti migliorativi sulla conservazione della stessa carne (Dlouha et al., 2008).

È stato osservato che *C. vulgaris* può sostituire con successo fino al 10% della farina di soia nella dieta dei polli da carne senza compromettere le prestazioni di crescita e le caratteristiche qualitative della carcassa (Alfaia et al., 2021; Boskovic Cabrol et al. 2022). La sostituzione della farina di soia con il 10%, 15% e 20% di *C. vulgaris* ha aumentato la colorazione gialla nel muscolo pettorale con un aumento significativo del contenuto di clorofilla a, clorofilla b e carotenoidi totali (Boskovic Cabrol et al. 2022).

L'inclusione del 20% di *C. vulgaris* ha migliorato la capacità di ritenzione idrica e ha comportato una minore perdita di cottura della carne del muscolo pettorale. Con l'aumento della percentuale di

inclusione di *C. vulgaris*, il contenuto di DHA + EPA e n-3 PUFA è aumentato nella carne del petto, mentre il rapporto n-6/n-3 PUFA è diminuito. Inoltre, l'analisi sensoriale ha dimostrato che l'inclusione di *C. vulgaris* nella dieta dei polli da carne ha portato i consumatori all'accettazione della carne. Per quanto riguarda i minerali, la sostituzione della farina di soia con il 15% e il 20% di *C. vulgaris* ha aumentato la quantità di K, Ca, Mg, P e Fe nei muscoli del petto a crudo, migliorando la composizione nutrizionale della carne (Boskovic Cabrol et al. 2022).



**Tabella 1.** Applicazione della biomassa di *Chlorella vulgaris* nell'alimentazione degli avicoli (Świątkiewicz et al., 2015).

<b>Livello di inclusione di <i>Chlorella</i></b>	<b>Animali, durata dello studio e variabili considerate</b>	<b>Risultati</b>	<b>Riferimenti</b>
Clorella e 0,3 mg Selenio /kg	Polli da carne, 1-42 d. Prestazioni, Se concentrazione e attività del glutatione perossidasi nella carne, stabilità ossidativa dei lipidi della carne.	Effetto positivo delle alghe sul peso corporeo, contenuto di Selenio e attività del glutatione perossidasi nella carne del petto. Diminuzione dell'ossidazione della carne immagazzinata del petto di uccelli nutriti con una dieta arricchita di Selenio e Clorella.	Doluha et al. (2008)
0,07, 0,14, o 0,21%	Polli da carne, 1-42 d. Prestazioni, immuni indici di risposta.	Miglioramento dell'indice di conversione e aumento numerico della risposta alla fitoemoagglutinina-P nei polli da carne alimentati con Clorella.	Rezvani et al. (2012)
1%, da sostituire crescita antibiotica promotore (essiccato polvere o fresco liquido clorella)	Polli da carne, 1-28 d. Prestazioni, immuni indici, intestinale popolazione batterica.	Liquido fresco Clorella influenza positiva sul peso corporeo, le caratteristiche immunitarie e Lattobacillo conta dei batteri nell'intestino.	Kang et al. (2013)
0,25, 0,50, 0,75% (nella forma di essiccato a spruzzo o macinato e essiccato)	Galline ovaiole, 22-54 sett. Prestazioni di deposizione, qualità e schiudibilità delle uova, bilancio azotato.	Miglioramento del colore del tuorlo, del peso del guscio e della schiudibilità delle uova, senza influire sulle prestazioni e sul bilancio azotato.	Halle et al. (2009)
1,25%	Galline ovaiole, 25-39 sett. Prestazione, uovo qualità, ossidativo stabilità dei lipidi del tuorlo.	Effetto positivo di Clorella sul peso dell'uovo, indice di conversione, qualità del guscio, colore del tuorlo, luteina e zeaxantina del tuorlo, nonché stabilità ossidativa dei lipidi del tuorlo delle uova fresche e conservate.	Englmayerova et al. (2013)
1 o 2%	Galline ovaiole, 56-63 sett. Qualità dell'uovo, tuorlo contenuto di carotenoidi, e livello di colesterolo.	Aumento del contenuto di carotenoidi nel tuorlo, luteina, $\beta$ -carotene e zeaxantina e punteggio del colore del tuorlo. Ridotto il peso del tuorlo nelle galline alimentate con una dieta con il 2% di Clorella.	Kotrbaček et al. (2013)
1% (convenzionale o fortificato con luteina. Clorella) (Esp 1), 0,1 o 0,2% fortificato con luteina Clorella nella dieta (Esp. 2)	Galline ovaiole, 70-72 settimane (Esp. 1), 60-62 settimane di età (Esp. 2). Prestazione, uovo qualità, luteina contenuto nel corpo di galline e uova.	Miglioramento della produzione di uova, del colore del tuorlo e del contenuto di luteina nel siero, nel fegato e negli ovociti in crescita. 0,2% di luteina fortificata Clorella aumento del peso delle uova, del colore del tuorlo e del contenuto di luteina nelle uova.	UN et al. (2014)
0,1 o 0,2% (fermentato Clorella biomassa)	Galline ovaiole, 80-86 sett. Prestazione, uovo qualità, intestinale profilo della microflora.	Miglioramento della produzione di uova, del colore del tuorlo, delle unità di Haugh e della popolazione cecale dei batteri dell'acido lattico.	Zheng et al. (2012)
0,1 o 0,2% (fermentato Clorella biomassa)	Anatre Pekino, 1-42 d. Performance di crescita, qualità della carne, microflora cecale, tibia qualità delle ossa.	Effetto positivo di Clorella su peso corporeo, indice di conversione, qualità della carne e resistenza alla rottura della tibia, senza differenze nella microflora cecale.	OH et al. (2015)



## Obiettivi

La carne di pollo è tra gli alimenti di origine animale più consumati al mondo con un elevato contenuto di proteine e vitamine del gruppo B. La produzione avicola è un settore zootecnico in rapida crescita, soprattutto nei paesi in via di sviluppo, per la velocità di crescita degli animali e l'efficiente rapporto di conversione dei mangimi. L'espansione di questo comparto è associata ad un aumento della domanda di prodotti agricoli per la produzione di mangimi e, quindi, ad un aumento dell'uso di terreno per la produzione di soia e mais per l'alimentazione animale.

Sono quindi allo studio risorse alternative sostenibili e di alta qualità per sostituire le materie prime proteiche tradizionali. Le microalghe verdi unicellulari, come *Chorella vulgaris*, possono essere una valida alternativa alla soia grazie al loro elevato contenuto di amminoacidi essenziali, composti bioattivi (tra cui carotenoidi), acidi grassi polinsaturi, vitamine, macro e micro-minerali importanti. La produzione delle microalghe non sfrutta terreni arabili per la produzione di materie prime alimentari, ma terreni poco produttivi o di basso interesse agrario. Inoltre, questi organismi hanno un'efficienza fotoautotrofa fino a 50 volte superiore rispetto alle piante coltivate. Contribuendo così alla sottrazione di anidride carbonica nell'atmosfera, alcune specie di microalghe sono in grado di raccogliere sostanze nutritive dalle acque reflue civili, agricole o industriali, e sono particolarmente efficienti nella rimozione di nitrati e fosfati. Per questi motivi, la maggior parte delle risorse necessarie per sostenere la coltivazione di microalghe non compete con l'agricoltura e le stesse microalghe possono così rappresentare un'ideale fonte complementare alla produzione agricola tradizionale.

Fatte queste premesse, la presente tesi sperimentale ha avuto come obiettivo quello di valutare l'effetto dell'inclusione nella dieta di polli da carne a livelli crescenti, da 3 al 6%, della microalga *Chlorella vulgaris* su prestazioni produttive, risultati alla macellazione e qualità della carne.



# Materiale e Metodi

## Descrizione dell'allevamento

La prova si è svolta presso lo stabulario per avicoli del Dipartimento di Agronomia Animali Alimenti Risorse naturali e Ambiente (DAFNAE) presso l'Azienda Agraria Sperimentale "L. Toniolo" dell'Università degli studi di Padova. L'allevamento si è svolto durante i mesi di ottobre e novembre 2022. Prima dell'arrivo degli animali, lo stabulario è stato pulito e disinfettato accuratamente. Inoltre, è stato effettuato un vuoto sanitario di otto mesi circa prima dell'accasamento dei pulcini.

La struttura era suddivisa in due ambienti separati, stanza nord e stanza sud, entrambi dotati di sistema di riscaldamento e di raffrescamento (*cooling system*), sistema di ventilazione forzata ed estrazione dell'aria interna, finestre con sistema di oscuramento totale e impianto per il controllo dell'intensità della luce, con effetto alba-tramonto. In ogni locale adibito all'allevamento degli animali, erano presenti 36 recinti di rete metallica di 3 m<sup>2</sup> (1,20 x 2,50 m, con pareti alte 1,20 m). In ogni recinto erano presenti abbeveratoi a goccia con tazzina salva goccia, opportunamente alzati o abbassati in base alla grandezza degli animali. Inoltre, erano presenti mangiatoie circolari con un diametro di 37 cm a riempimento manuale collegate a celle di carico per rilevare giornalmente i consumi alimentari. Per consentire ai pulcini di ambientarsi e alimentarsi rapidamente, al momento dell'accasamento sono stati disposti alcuni fogli di carta a terra con a fianco un contenitore a bordi bassi con all'interno mangime addizionale.

La pavimentazione dei recinti era piena in cemento; per il confort degli animali è stata posizionata una lettiera di paglia trinciata e truciolo di legno (5 cm di spessore per 2,5 kg/m<sup>2</sup>), 100% faggio, essiccato, depolverato certificato per assenza di vernici, pesticidi, fertilizzanti, e aflatossine.

Prima dell'accasamento dei pulcini, gli ambienti di stabulazione degli animali sono stati riscaldati fino ad una temperatura ambientale di 26°C; inoltre, nei recinti sono state installate lampade a infrarossi disposte ad un'altezza tale da garantire 30°C a livello del corpo degli animali. La ventilazione dei locali combinata al sistema di raffrescamento *cooling system* è stata disposta ad un livello minimo, solo per consentire l'adeguato ricircolo dell'aria all'inizio, e progressivamente aumentata all'aumentare dell'età degli animali. Dall'11 giorno di prova, la ventilazione è stata ulteriormente aumentata fino a raggiungere l'80% della capacità dei ventilatori a 19 giorni e il 100% dai 27 giorni in poi e fino alla fine della prova, in maniera coerente con l'aumento della temperatura esterna.

Il programma luce prevedeva 24 ore di luce consecutive nei primi due giorni e un progressivo aumento delle ore di buio a partire dal terzo giorno per raggiungere le 6 ore di buio dai 12 giorni in

poi; nei due giorni precedenti la macellazione commerciale, il programma luce ha previsto la somministrazione di 24 ore di luce.

### **Animali e diete sperimentali**

Da un incubatoio commerciale sono stati acquistati 600 pulcini Ross 308 di un giorno, di sesso maschile e femminile, consegnati da un camion autorizzato in conformità con il regolamento (CE) n. 1/2005. I pulcini prima della consegna sono stati sessati, separati in base al sesso, e vaccinati contro la malattia di Marek, la bronchite infettiva e la malattia di Newcastle nell'incubatoio. Una volta arrivati presso lo stabulario polli, i pulcini sono stati pesati singolarmente e ad ognuno è stata applicata un'etichetta con un numero di identificazione. I pulcini sono stati quindi collocati in 36 recinti divisi in base al sesso (maschi e femmine) e in numero di 16 per recinto per un totale di 576 pulcini. I 24 pulcini rimanenti, 12 per sesso, sono stati collocati in due recinti di riserva per le sostituzioni da effettuare entro i primi giorni della prova per mortalità e/o problemi di salute degli animali. Dei 36 recinti, 18 erano nella stanza nord e 18 nella stanza sud. Nella prima stanza, la temperatura è stata mantenuta in modo da determinare uno stress termico agli animali; nella seconda stanza, la temperatura è stata mantenuta a valori nella zona di termo-neutralità e in grado di garantire il comfort termico agli animali. All'interno di ogni stanza, sono stati costituiti tre gruppi sperimentali con 6 recinti per gruppo alimentati con 1) dieta C0, 94% dieta controllo + 6% di f.e. soia nazionale; 2) dieta C3, 94% dieta controllo + 3% f.e. soia + 3% *C. vulgaris*; e 3) dieta C6, 94% dieta controllo + 6% *C. vulgaris*.

Nella prima stanza, mantenuta in condizioni di termoneutralità, la temperatura è stata impostata secondo le raccomandazioni per l'allevamento dei polli da carne prodotte da Aviagen (2018). Gli animali sono stati allevati ad una temperatura sotto cappa di  $31\pm 1^{\circ}\text{C}$  per i primi tre giorni, gradualmente ridotti di  $2^{\circ}\text{C}$  a settimana per raggiungere i  $24^{\circ}\text{C}$  al giorno 35, e quindi  $20^{\circ}\text{C}$  dopo i 25 giorni di età e fino al termine della prova sperimentale. Nell'altra stanza, la temperatura è stata mantenuta a  $31\pm 1^{\circ}\text{C}$  da 1 a 6 giorni,  $30\pm 0,5^{\circ}\text{C}$  da 7 a 13 giorni,  $29\pm 0,5^{\circ}\text{C}$  da 14 a 20 giorni, e infine  $28\pm 0,5^{\circ}\text{C}$  da 21 a 42 giorni.

I pulcini dopo essere stati collocati nei diversi recinti sono stati alimentati con una dieta standard e unica per tutti gli animali per i primi cinque giorni. Quindi, dal sesto giorno e fino alla macellazione (42 d) i polli sono stati alimentati con le tre diete sperimentali di cui sopra (i.e. dieta C0, dieta C3 e dieta C6) formulate utilizzando tre diverse diete di controllo a seconda del periodo di allevamento, i.e. P1, P2 e P3 (Tabella 2). Il mangime base P1 è stato utilizzato da 1 a 14 giorni; quindi, il P2 da 14 a 28 d; e il P3 da 28 a 42 giorni.

Le materie prime principali utilizzate erano mais e soia, integrati con semi di soia tostati semola glutinata di mais, farinaccio, crusca di grano e olio di soia, oltre che la necessaria integrazione minerale e vitaminica (Tabella 2).

Ai risultati delle analisi di laboratorio (Tabella 3), il contenuto di proteina grezza della farina di soia utilizzata per la preparazione dei mangimi è risultato pari al 44,2%, per un contenuto di estratto etereo del 1,16%, mentre quello della clorella si è attestato sul 49,2% di proteina grezza e lo 0,81% di estratto etereo. La composizione chimica delle diete C0 è risultata pari a: 20,5%, 18,6% e 17,9% di proteina grezza per la dieta di primo, secondo e terzo periodo; 3,79%, 3,87% e 4,44% di estratto etereo; e 32,8%, 34,4% e 38,0% di amido. La composizione chimica delle diete C3 è risultata pari a: 20,7%, 19,0% e 18,2% di proteina grezza per la dieta di primo, secondo e terzo periodo; 4,02%, 3,98% e 4,66% di estratto etereo; e 32,9%, 35,7% e 35,8% di amido. Infine, per la dieta C6, le indicazioni delle analisi preliminari hanno dato un contenuto di proteina grezza al 20,9%, 19,1% e 18,4% nel primo, secondo e terzo periodo; estratto etereo al 3,97%, 4,18% e 4,61%; e amido al 35,2%, 36,1% e 36,8%.

La Tabella 4 riporta il profilo in acidi grassi delle diete e delle due materie prime utilizzate per formulare le diete sperimentali. La percentuale sugli acidi grassi totali di acidi grassi saturi (SFA) e monoinsaturi (MUFA) è risultata maggiore nella clorella rispetto alla soia, nella quale sono invece risultati prevalenti gli acidi grassi polinsaturi (PUFA). Il profilo delle diete sperimentali contenenti clorella in sostituzione della soia è variato di conseguenza.

**Tabella 2.** Formulazione delle diete controllo utilizzate per la formulazione delle diete sperimentali.

<b>Periodo</b>	<b>Dieta base (controllo)</b>		
	<b>P1 (1-14 d)</b>	<b>P2 (14-25 d)</b>	<b>P3 (25-42 d)</b>
Mais, %	49,90	53,63	55,90
Soia proteica 48 %, %	29,70	20,00	18,00
Semola glutinata di mais, %	5,90	7,90	7,90
Farinaccio, %	5,00	7,00	7,00
Seme di soia tostato, %	0,00	2,50	2,50
Crusca di grano, %	1,80	1,80	2,00
Olio di soia, %	1,72	1,70	1,68
Fosfato monocalcico, %	1,70	1,66	1,00
Calcio carbonato, %	1,66	1,50	1,77
Girasole f.e. 28%, %	1,00	1,00	1,00
Integratore vitaminico minerale	0,68	0,55	0,55
Sodio cloruro, %	0,20	0,20	0,20
Sodio bicarbonato, %	0,20	0,20	0,20
Lisina cloridrato, %	0,18	0,14	0,11
Metionina, %	0,14	0,14	0,11
Treonina, %	0,05	0,03	0,03
Colina liquida 70%, %	0,04	0,04	0,04
Vitamina E, %	0,01	0,01	0,01
Legante, %	0,10	0,00	0,00
Mycofix Select 5.E, %	0,05	0,00	0,00



**Tabella 3.** Composizione chimica alle analisi preliminari effettuate presso il laboratorio Lachi del Dipartimento DAFNAE delle diete sperimentali e delle materie prime base (f.e. soia, *C. vulgaris*).

Periodo di somministrazione	Diete sperimentali									Materie prime	
	1-14 d			14-25 d			25-42 d			Farina di soia	<i>C. vulgaris</i>
	C0	C3	C6	C0	C3	C6	C0	C3	C6		
Sostanza secca,%	89,9	90,3	90,5	88,3	88,3	88,51	89,1	89,1	89,4	89,7	94,4
Proteina grezza,%	20,5	20,7	20,9	18,6	19,0	19,1	17,9	18,2	18,4	44,2	49,2
Estratto etero,%	3,79	4,02	3,97	3,87	3,98	4,18	4,44	4,66	4,61	1,16	0,81
Amido,%	32,8	32,9	35,2	34,4	35,7	36,1	38,0	35,8	36,8	3,64	8,61
Ceneri,%	6,65	6,57	6,73	5,91	6,13	6,34	6,39	6,09	6,57	6,71	7,49
Minerali (mg/kg)											
Na	1912	1795	1789	816	2722	876	1775	1736	1872	332,37	2345,91
K	10983	9796	10070	9920	9248	8682	9791	9360	9399	21355	8835
Ca	13057	11050	11338	9600	10218	10853	11475	12960	13097	3508	11958
Mg	2289	2139	2190	2000	1909	1853	1905	1936	1957	3115	2186
P	8295	8072	8662	7432	7607	7907	7168	8080	8089	7025	17975
Fe	258,83	333,86	311,27	193,6	225,24	259,69	263,92	275,2	303,54	170,20	1112
Cu	12,98	10,81	12,25	7,19	13,20	8,14	16,75	13,84	11,33	14,13	18,74
Zn	89,09	94,83	91,55	93,60	93,97	93,80	76,12	80,00	91,68	49,45	268,10
Mn	119,82	122,26	116,20	125,60	121,57	129,46	149,94	140,80	151,00	46,56	101,30
S	2381	2484	2599	2200	2364	2411	2433	2552	2712	3821	7388

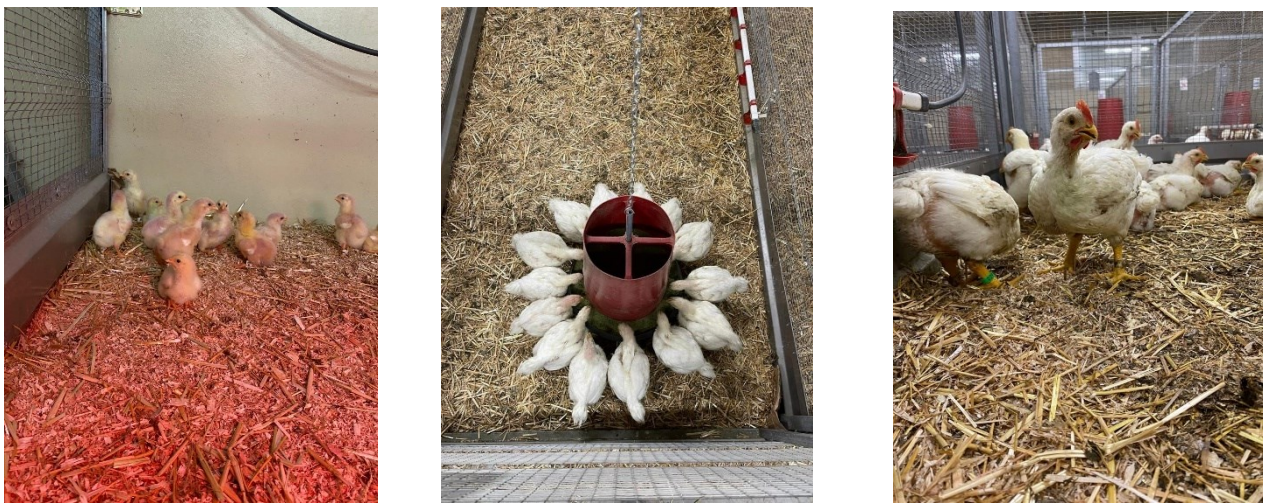
**Tabella 4.** Profilo degli acidi grassi (AG) (% degli acidi grassi totali) nelle diete sperimentali e nelle materie prime di riferimento.

Periodo di somministrazione	Diete sperimentali									Materie prime	
	1-14 d			14-25 d			25-42 d			Farina di soia	<i>C. vulgaris</i>
	C0	C3	C6	C0	C3	C6	C0	C3	C6		
C16:0	12,1	12,4	12,3	12,0	12,3	12,5	11,7	11,8	11,8	12,3	22,0
C18:0	3,28	3,62	3,55	3,35	3,43	3,51	3,43	3,26	3,54	4,66	4,78
C20:0	0,41	0,46	0,44	0,40	0,42	0,45	0,42	0,41	0,47	0,52	0,80
Altri SFA	0,94	0,91	1,00	1,01	1,01	0,93	0,90	0,90	0,90	1,53	5,15
C18:1n9	24,9	25,8	25,6	25,6	25,5	25,9	25,3	25,0	25,6	21,8	15,8
C18:1n7	1,09	1,11	1,11	1,06	1,09	1,11	1,09	1,09	1,10	1,66	3,16
Altri MUFA	0,62	0,65	0,69	0,68	0,71	0,75	0,54	0,62	0,68	0,70	10,31
C18:2n6	52,1	50,7	51,0	51,8	51,3	50,7	51,7	51,9	51,0	49,7	22,6
C18:3n3	4,33	4,21	4,16	3,96	4,14	4,01	4,86	4,97	4,84	6,88	11,05
Altri PUFA	0,13	0,12	0,13	0,13	0,11	0,13	0,08	0,08	0,10	0,14	4,41
Totale SFA	16,7	17,4	17,3	16,8	17,1	17,3	16,4	16,4	16,7	19,1	32,7
Totale MUFA	26,6	27,5	27,4	27,3	27,3	27,8	27,0	26,7	27,4	24,2	29,2
Totale PUFA	56,6	55,0	55,3	55,9	55,5	54,8	56,6	56,9	55,9	56,8	38,1
n-3	4,33	4,21	4,16	4,00	4,14	4,01	4,86	4,97	4,84	6,89	12,5
n-6	52,3	50,8	51,2	51,9	51,4	50,9	51,8	52,0	51,1	49,9	25,6
n-6/n-3	12,1	12,1	12,3	13,0	12,4	12,7	10,6	10,5	10,5	7,26	2,07

## Rilievi in vivo

Gli animali sono stati monitorati durante tutto il ciclo di allevamento dall'accasamento alla macellazione. Ogni giorno venivano controllate le condizioni di salute degli animali ed eliminati gli eventuali animali morti; verificato il funzionamento e il posizionamento della linea di abbeverata, e registrati i parametri ambientali in ogni stanza dello stabulario. I consumi alimentari di tutti i recinti sono stati registrati giornalmente tramite celle di carico collegate alle mangiatoie (Figura 4).

Una volta alla settimana e per tutta la durata dell'allevamento, gli animali sono stati pesati individualmente. I pesi individuali sono stati quindi tempestivamente registrati in un file Excel per effettuare un controllo immediato dell'accrescimento degli animali.



**Figura 4.** Stabulazione degli animali durante i tre periodi di accrescimento.

## Macellazione commerciale e dissezione delle carcasse

A 42 giorni di età, gli animali presenti nello stabulario sono stati macellati presso una struttura commerciale secondo le procedure standard, dopo un digiuno alimentare di 7 ore e un digiuno idrico di 4 ore. Prima di essere caricati per il trasporto al macello, gli animali sono stati pesati individualmente, e posti manualmente nelle gabbie per il trasporto. Al macello, gli animali sono stati macellati secondo le normali procedure di stordimento, iugulazione, rimozione delle piume/penne, eviscerazione e raffreddamento delle carcasse dal personale addetto. Le carcasse sono state recuperate con le zampe per l'identificazione individuale. Dopo il raffreddamento delle carcasse, circa due ore dopo l'entrata in cella, le carcasse dei polli sono state pesate individualmente per poter calcolare la resa di macellazione (Working group 5, World's Poultry Science Association, 1984). Quindi, 180 carcasse, rappresentative per peso vivo medio e variabilità dei 36 recinti (5 animali per recinto), sono state trasportate per le analisi di qualità della carcassa e della carne al laboratorio LaChi dell'Università di Padova.

## Caratteristiche delle carcasse e qualità della carne

All'arrivo presso il Dipartimento, le 180 carcasse sono state sottoposte all'esame macroscopico per determinare la presenza di miopatie wooden breast, spaghetti meat e white striping (Figura 5) sul petto secondo i criteri proposti da Kuttapan et al. (2012) e Sihvo et al. (2014). Le carcasse sono state conservate in cella frigorifera a 4°C per 24 ore; successivamente 108 carcasse sono state sezionate e pesate in modo da ottenere la resa dei tagli principali, quali petto, cosce, sovracosce e ali (Figura 6). Sul muscolo *P. major* destro sono stati misurati pH e colore; successivamente, il *P. major* è stato sezionato in porzioni più piccole (8 cm x 4 cm x 3 cm), confezionate sottovuoto e conservate ad una temperatura di -18°C per la successiva valutazione di perdite di scongelamento, perdite di cottura, consistenza, ed analisi sensoriali.

Il pH del muscolo *P. maior* è stato rilevato in tre punti sul lato ventrale utilizzando un pHmetro (Basic 20, Crison Instruments Sa, Carpi, Italy) dotato di un elettrodo specifico per la penetrazione nella carne e di sonda termica (cat. 5232, Crison Instruments Sa, Carpi, Italy). Il colore è stato rilevato con tre misure sul lato ventrale del petto mediante spettrofotometro Minolta CM-508 (Minolta Corp., Ramsey, Nj, USA) con illuminante 65D secondo il metodo CIELab (1976) e la misura di luminosità ( $L^*$ ), indice del rosso ( $a^*$ ) e indice del giallo ( $b^*$ ). Per determinare le perdite di scongelamento e di cottura, i campioni di carne (8 cm x 4 cm x 3 cm) sono stati scongelati per 24 ore a 4°C a temperatura ambiente ed è stato misurato il peso finale del campione dopo averlo asciugato (Petracci e Baéza 2011). Per calcolare le perdite di cottura, i campioni di carne sono stati confezionati sottovuoto nuovamente e cotti a 80°C per 50 minuti a bagnomaria. Dopo la cottura, i campioni sono stati fatti raffreddare per circa 40 minuti a temperatura ambiente, estratti dall'involucro ed asciugati dal liquido perso durante la cottura, e pesati. Dai campioni cotti è stata prelevata una porzione più piccola (4 cm x 2 cm x 1 cm) sottoposta a determinazione di forza di taglio con il dinamometro Ls5 (Lloyd Instruments Ltd, Bognor Regis, UK), sonda Allo-Kramer (10 lame) (cella di carico: 500 kg; distanza tra le lame: 5 mm, spessore: 2 mm, velocità di taglio: 250 mm/min) (Mudalal et al., 2015) (Figura 7).



**Figura 5.** Presenza di miopatie (Wooden breast, Spaghetti meat e White striping da sinistra a destra) sul petto dei polli macellati.



**Figura 6.** Carcasse prima della dissezione (a destra), petti separati dalle varie carcasse per analisi del colore (a sinistra).



**Figura 7.** Campioni di *P. major* dopo la cottura da utilizzare per misura tenerezza (a sinistra), dinamometro Ls5 durante le misurazioni (a destra).

## **Analisi chimiche**

I muscoli *P. major*, dopo prelievo del campione per le perdite di scongelamento e cottura, sono stati utilizzati per la determinazione della composizione chimica tipo. Il campione di carne è stato macinato con Grindomix GM 200 (Retsch), liofilizzato, macinato e utilizzato per determinare la composizione chimica tipo, il profilo acidico e il contenuto di minerali.

La composizione chimica per contenuto di sostanza secca, ceneri, proteina grezza ed estratto etereo è stata determinata con metodi AOAC (2000).

Il profilo degli acidi grassi è stato analizzato dopo l'estrazione del grasso mediante l'estrazione accelerata con solventi (ASE®, Dionex, Sunnyvale, CA, USA, Application Note 334) e l'utilizzo della gas cromatografia con un 7820A Gas Chromatograph (Agilent Technologies, Santa Clara, CA, USA) e Supelco OMEGAWAX-TM 250 (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA) (Gratta et al., 2019). Gli acidi grassi sono stati identificati confrontando il tempo di ritenzione degli esteri metilati di acidi grassi (FAMES) utilizzando uno standard (Supelco 37 – component FAME Mix, 47885 – U). I singoli acidi grassi sono stati espressi come percentuale delle aree totali.

Per l'analisi dei minerali in mangimi e materie prime, la mineralizzazione del campione è stata eseguita con la tecnica a microonde utilizzando lo strumento MILESTONE START D (Milestone Srl Sorisole BERGAMO) alla potenza di 1200 watt, corredato di ROTORE SK-10 ad elevata pressione (64 bar) e controllo con sonda di temperatura e software. I contenitori (vessel) utilizzati per eseguire il processo erano in TFM alta pressione. Il campione è stato pesato (0,25 g di liofilizzato) e nel contenitore sono stati aggiunti 7 ml di acido nitrico 67% superpuro e 2 ml di perossido di idrogeno 30%. Il programma di mineralizzazione prevedeva 3 fasi (1: 15 minuti alla temperatura di 200°C; 2: 18 minuti alla temperatura 200°C; 3: raffreddamento fino a 35°C). Il campione mineralizzato è stato quindi portato a volume (25 ml) con acqua demineralizzata la determinazione dei minerali è stata effettuata con ICP-OES (analisi in spettrometria al plasma; SPECTRO ARCOS, SPECTRO Analytical Instruments GmbH, Kleve, Germany).

## **Analisi statistica**

I dati individuali di prestazioni produttive (peso vivo, accrescimento medio giornaliero), dissezione della carcassa e qualità della carne sono stati analizzati con analisi della varianza, considerando come effetti fissi il trattamento alimentare, la temperatura della stanza, il sesso e la loro interazione, e come effetto casuale il recinto, utilizzando la procedura PROC MIXED del SAS (SAS Institute, Cary, NC, USA). Quindi, i dati di recinto relativi a consumi alimentari ed indici di conversione sono stati sottoposti ad analisi della varianza con la dieta, la temperatura della stanza, il sesso, e la loro

interazione come effetti fissi utilizzando la procedura PROC GLM del SAS. Le differenze fra le medie con  $P \leq 0,05$  sono state considerate statisticamente significative, mentre quelle con  $0,05 \leq P \leq 0,10$  sono state considerate come indicative di una tendenza. Infine, i dati relativi alla presenza di miopatie nelle carcasse dei polli analizzati sono stati analizzati con analisi della varianza, considerando come effetti fissi il trattamento alimentare, la temperatura, il sesso e la loro interazione, utilizzando la procedura PROC CATMOD del SAS.

## Risultati e Discussione

### Prestazioni produttive

Nella Tabella 5 sono riportati i risultati delle prestazioni produttive degli animali alimentati con diete contenenti diversi livelli di *Chlorella vulgaris* in sostituzione della soia dalla schiusa fino alla macellazione a 42 giorni di età, in funzione dei fattori sperimentali considerati, i.e. dieta, temperatura del locale di allevamento e sesso degli animali. Mediamente, gli animali hanno raggiunto alla fine della prova un peso vivo medio di 2447 g, mostrando un accrescimento medio giornaliero di 57,2 g, un consumo alimentare di 102 g e un indice di conversione di 1,74. Per quanto riguarda l'effetto della dieta, dopo le prime due settimane, il peso vivo degli animali è risultato significativamente superiore nei polli alimentati con la dieta contenente il 3% di Clorella rispetto a quelli alimentati con la dieta senza o con il 6% di Clorella (453 g vs. 438 g e 436 g;  $P < 0,01$ ). Questa differenza si è mantenuta fino alla fine della prova, dove è stato misurato un peso vivo medio finale pari a 2495 g nei polli alimentati con la dieta C3 e pari a 2458 g e 2387 g nei polli alimentati con le diete C0 e C6, rispettivamente.

Nel primo periodo, l'accrescimento medio giornaliero è risultato di 29,1 g/d negli animali alimentati con la dieta C3 rispetto agli animali che ricevevano trattamenti alimentari differenti (C0 e C6), con un accrescimento di 28,0 e 27,9 g/d. Nel secondo e terzo periodo, gli animali alimentati con dieta C3 hanno continuato ad avere un maggiore accrescimento, 91,0 g/d vs. 89,6 g/d dei polli della dieta C0 e 87,4 g/d dei polli della dieta C6 ( $P = 0,001$ ).

In tutto il periodo sperimentale, quindi, il maggiore accrescimento è stato per gli animali alimentati con la dieta C3 rispetto a quelli alimentati con le altre diete, i.e. 58,3 g/d vs. 57,4 g/d con la dieta C0 e 55,7 g/d con la dieta C6. Anche il consumo alimentare è risultato inferiore ( $P < 0,001$ ) nei polli alimentati con dieta C3 rispetto a quelli alimentati con la dieta C0 o la dieta C6. D'altra parte, l'indice di conversione non è risultato diverso nei polli sottoposti ai diversi trattamenti sperimentali, se non nel primo periodo quando la conversione alimentare è risultata più favorevole negli animali alimentati con dieta C6 ( $P = 0,010$ ).

**Tabella 5.** Prestazioni dei polli alimentati con diete contenenti diversi livelli di Clorella, in due stanze a diversa temperatura, e dei due sessi.

	Dieta (D)			Temperatura (T)		Sesso (S)		P value						MSE	
	C0	C3	C6	H	L	F	M	D	T	S	D×T	D×S	T×S		D×T×S
Polli (n)	192	192	192	288	288	288	288								
Peso vivo, g															
Giorno 1	45,7	45,9	45,2	46,0	45,6	44,6	46,6	0,19	0,001	<0,001	0,66	0,63	0,92	0,71	3,51
Giorno 14	438 <sup>a</sup>	453 <sup>b</sup>	436 <sup>a</sup>	442	442	426	458	0,001	0,97	<0,001	0,54	0,71	0,76	0,10	47,0
Giorno 27	1124 <sup>a</sup>	1143 <sup>a</sup>	1090 <sup>b</sup>	1136	1103	1069	1169	0,001	0,11	<0,001	0,93	0,15	0,34	0,90	117,4
Giorno 42	2458 <sup>a</sup>	2495 <sup>a</sup>	2387 <sup>b</sup>	2433	2459	2237	2656	<0,001	0,48	<0,001	0,64	0,11	0,40	0,63	208,7
Accrescimento (g/d)															
1–14 giorni	28,0 <sup>ab</sup>	29,1 <sup>a</sup>	27,9 <sup>b</sup>	28,3	28,4	27,3	29,4	0,001	0,86	<0,001	0,55	0,66	0,75	0,10	3,30
15–27 giorni	52,6 <sup>a</sup>	52,8 <sup>a</sup>	50,0 <sup>b</sup>	53,2	50,4	49,2	44,4	0,001	0,044	<0,001	0,86	0,14	0,33	0,70	7,68
28–42 giorni	89,7 <sup>ab</sup>	91,0 <sup>a</sup>	87,4 <sup>b</sup>	86,9	91,7	78,7	100	0,001	<0,001	<0,001	0,51	0,13	0,64	0,31	8,85
Complessivo	57,4 <sup>a</sup>	58,3 <sup>a</sup>	55,7 <sup>b</sup>	56,8	57,5	52,2	62,1	<0,001	0,47	<0,001	0,65	0,11	0,40	0,63	4,96
Consumo (g/d)															
1–14 giorni	36,6 <sup>a</sup>	37,3 <sup>a</sup>	35,6 <sup>b</sup>	36,3	36,7	35,5	37,4	0,001	0,17	<0,001	0,16	0,72	0,23	0,06	0,91
15–27 giorni	90,9 <sup>ab</sup>	93,1 <sup>a</sup>	88,7 <sup>b</sup>	89,8	92,1	88,1	93,7	0,05	0,08	0,001	0,28	0,37	0,38	0,52	3,80
28–42 giorni	172,5 <sup>a</sup>	172,1 <sup>a</sup>	163,9 <sup>b</sup>	166,9	172,1	156,6	182,5	<0,001	<0,01	<0,001	0,03	0,01	0,73	0,01	4,60
Complessivo	103,5 <sup>a</sup>	104,3 <sup>a</sup>	99,4 <sup>b</sup>	101,0	103,8	96,5	108,3	<0,001	0,001	<0,001	0,16	0,015	0,39	0,010	2,30
Indice di conversione															
1–14 giorni	1,31 <sup>a</sup>	1,28 <sup>ab</sup>	1,27 <sup>b</sup>	1,28	1,29	1,30	1,27	0,01	0,10	0,001	0,57	0,30	0,16	0,94	0,03
15–27 giorni	1,62	1,63	1,62	1,62	1,63	1,65	1,60	0,80	0,79	0,05	0,28	0,40	0,96	0,32	0,08
28–42 giorni	1,94	1,90	1,88	1,93	1,88	1,98	1,92	0,25	0,09	<0,001	0,16	0,59	0,67	0,22	0,09
Complessivo	1,76	1,75	1,73	1,75	1,74	1,79	1,70	0,27	0,32	<0,001	0,19	0,39	0,93	0,14	0,05



La presenza di una percentuale maggiore di *C. vulgaris* nella razione alimentare dei polli da carne (6%) ha quindi portato ad una minore assunzione di alimento che potrebbe essere dovuta alla minor appetibilità della razione contenente le microalghe (Kang et al., 2013; Abdelnour et al., 2019). È inoltre possibile che le prestazioni produttive degli animali alimentati con la dieta C6 siano peggiorate anche a causa della gelificazione delle proteine delle microalghe e per l'elevato contenuto di polisaccaridi non amidacei nella parete cellulare (Evans et al., 2015; Alfaia et al., 2021; Boskovic Cabrol et al., 2022) che riducono la velocità di transito del mangime e la digeribilità (Evans et al., 2015; Alfaia et al., 2021; Boskovic Cabrol et al., 2022a).

In quanto al sesso, dal primo giorno di vita i maschi hanno presentato un peso vivo maggiore rispetto alle femmine (46,6 g vs. 44,6 g;  $P < 0,001$ ) che si è mantenuto tale per tutto il corso della prova, a 14 giorni (458 g vs. 426 g), a 27 giorni (1170 g vs. 1069 g), e alla macellazione a 42 giorni (2656 g vs. 2237 g). L'accrescimento e il consumo medio giornaliero sono quindi risultati maggiori nei maschi rispetto alle femmine, mentre l'indice di conversione alimentare è risultato simile.

Le differenze dovute alla diversa temperatura ambientale delle due stanze di allevamento sono risultate piuttosto contenute: non sono state misurate differenze nel peso degli animali o nell'accrescimento in tutto il periodo, ma nel secondo periodo (15-27 d) l'accrescimento è risultato superiore per gli animali stabulati nella stanza con temperatura ambientale maggiore (53,2 g/d vs 50,4 g/d), mentre nel terzo periodo (28-42 d) si è verificato il contrario (86,9 g/d vs 91,7 g/d;  $P < 0,001$ ). In tutto il periodo, il consumo alimentare è stato superiore per gli animali stabulati nella stanza con temperatura ambientale più bassa (104 g/d vs. 101 g/d) e la variazione è dipesa soprattutto dalle differenze di consumo nel terzo periodo (28-42 giorni). D'altra parte, l'indice di conversione alimentare non è variato con la temperatura di allevamento (Tabella 5).

In effetti, è noto che la minor assunzione di mangime riduce la produzione di calore metabolico e quindi migliorano le condizioni di termoregolazione degli animali stessi in condizioni di stress da calore (Gous e Morris, 2005). Inoltre, per gli animali alla fine del ciclo è più difficile mantenere l'omeostasi dato la maggiore massa corporea e la maggior attività metabolica (Borges et al., 2003) Nel nostro studio, le condizioni di stress termico limitate al secondo periodo non hanno avuto ripercussioni sul peso finale degli animali considerata l'esposizione non particolarmente severe al periodo. Infatti, lo stress termico risulta elevato e al di sopra di ogni controllo da parte degli animali a temperature superiori ai 30°C (Al-Sagan et al., 2020). Alte temperature ambientali attivano l'asse ipotalamo-ipofisi con un aumento della produzione di corticosterone (Quinteiro-Filho et al., 2012), che provoca una minor assunzione di mangime da parte degli animali con la diminuzione della

grandezza dei villi intestinali (Hu e Guo, 2008) e un minor assorbimento dei nutrienti contenuti nella dieta. (Olfati et al.,2018).

## **Risultati di macellazione**

La Tabella 6 riporta i risultati alla macellazione commerciale. Le piccole differenze di peso vivo rilevate alla fine della prova sono scomparse in termini di peso delle carcasse dopo la macellazione. Alla dissezione, la resa in petto è risultata significativamente superiore nei polli alimentati con la dieta C6 piuttosto che in quelli che avevano ricevuto le diete C0 e C3 (39,6% vs. 38,2% e 39,2%;  $P < 0,01$ ). Rispetto al sesso, coerentemente con le differenze di peso vivo, il peso della carcassa è risultato superiore nei maschi rispetto alle femmine ( $P < 0,001$ ), mentre la resa di macellazione e la resa in petto e *P. major* sono risultate maggiori e quella degli arti posteriori minore nelle femmine ( $P < 0,001$ ), ad indicare un diverso sviluppo corporeo nei due sessi. In quanto alla temperatura di allevamento, l'unico risultato rilevante è stato quello della resa del muscolo pettorale, inferiore nei polli sottoposti a stress termico (38,4% vs 39,7%;  $P < 0,01$ ).

## **Presenza di miopatie**

L'inclusione di clorella nelle diete non ha modificato la frequenza di white striping e/o spaghetti meat (Tabella 7), mentre la presenza di wooden breast è risultata significativamente inferiore nei polli alimentati con la dieta contenente il livello maggiore di clorella, la dieta C6. Altri studi hanno riportato una riduzione della presenza di wooden breast per effetto dell'integrazione alimentare di microalghe ricche di DHA (Khan et al., 2021). D'altra parte, non sono state osservate differenze significative nella frequenza delle miopatie per gli animali allevati nelle due stanze a temperature diverse, mentre è stata confermata la significativa e maggiore incidenza di spaghetti meat nelle femmine piuttosto che nei maschi (Tabella 7). Infatti, in bibliografia è riportata la maggiore incidenza di wooden breast nei maschi e di spaghetti meat nelle femmine (Trocino et al., 2015; Bordignon et al., 2022).

## **Qualità della carne**

L'inclusione di *C. vulgaris* ha modificato significativamente la colorazione della carne (Tabella 8). L'indice di luminosità misurato sul *Pectoralis major* è risultato minore negli animali alimentati con la dieta C6 rispetto a quelli che avevano ricevuto la dieta C3 e la dieta C0 (48,93 vs. 49,57 e 50,65), mentre l'indice del rosso e l'indice del giallo sono risultati maggiori nei primi rispetto ai secondi per l'accumulo di carotenoidi derivanti dalla *C. vulgaris*. Ricerche precedenti hanno riportato una diminuzione della luminosità e un aumento dell'indice del rosso e del giallo della carne del petto con inclusioni di *C. vulgaris* al 10-20% della dieta (Alfaia et al, 2021; Boskovic Cabrol et al., 2022). Le microalghe, infatti, riescono a trasferire alla carne una quantità di xantofille tali da aumentarne

l'intensità della colorazione (Kulkarni e Nikolov, 2018). L'integrazione di *C. vulgaris* a livelli minori (0,05-0,50%) non aveva invece portato a cambiamenti della colorazione della carne (An et al., 2016), confermando ancora una volta che l'effetto delle microalghe dipende dalla percentuale di integrazione di esse nell'alimentazione.

D'altra parte, nel nostro studio, il pH, le perdite di scongelamento, le perdite di cottura, lo sforzo di taglio e i risultati di Texture Profile Analysis non sono stati influenzati dal trattamento alimentare. In un lavoro precedente, l'aumento dell'inclusione di *C. vulgaris* fino al 20% aveva aumentato le perdite di scongelamento e di cottura (Boskovic Cabrol et al., 2022a), mentre sulla base della bibliografia l'inclusione di *C. vulgaris* non influenza il pH della carne (El-Bahr et al., 2020; Boskovic Cabrol et al., 2022).

Infine, nelle nostre condizioni, la composizione chimica della carne non è risultata diversa in funzione del trattamento alimentare (Tabella 8).

Rispetto alla temperatura di allevamento, il pH della carne, le perdite di scongelamento e quelle di cottura sono risultati superiori negli animali allevati a una temperatura superiore (5,92 vs 5,86), mentre non è variato il colore. Alla Texture Profile Analysis, l'indice di chewiness è risultato superiore per la carne degli animali allevati a temperature più alte. Le variazioni di composizione chimica tipo sono state limitate alle ceneri (Tabella 9). In quanto all'effetto della temperatura di allevamento sul pH della carne, uno stress da caldo acuto solitamente comporta in aumento della temperatura muscolare e un'accelerazione della glicogenolisi muscolare con associato aumento del contenuto di acido lattico e riduzione del pH (Zaboli et al., 2019); d'altra parte, uno stress da caldo cronico porta ad un esaurimento delle riserve di glicogeno muscolare e di conseguenza un pH maggiore nella carne (Debut et al., 2003), come osservato nel nostro studio.

Infine, le caratteristiche qualitative e reologiche (Tabella 8) così come la composizione chimica del muscolo *Pectoralis major* (Tabella 9) non sono risultate sostanzialmente diverse negli animali dei due sessi.

La Tabella 10 riporta il profilo in acidi grassi in funzione del trattamento alimentare, della temperatura della stanza di allevamento e del sesso degli animali. L'inclusione fino al 6% di clorella nella dieta ha aumentato la percentuale di acido margarico (C17: 1), acido vaccenico (C18:1n7) e acido  $\alpha$ -linolenico (C18:3n3), e quindi degli acidi grassi n-3 con una diminuzione del rapporto degli acidi grassi omega 6 e omega 3. Non sono state misurate differenze per la percentuale di SFA, MUFA e PUFA in funzione del contenuto di clorella delle diete.

Considerando le condizioni ambientali di stabulazione, la temperatura più elevata ha portato ad un aumento della percentuale di acido laurico (C12:0), acido miristico (C14:0), acido tetradecenoico (C14:1), acido  $\alpha$ -linolenico (C18:3n3), acido eicosatrienoico (C20:3n3), acido eicosapentaenoico (C20:5n3), e quindi di acidi grassi n-3, ed una diminuzione della percentuale di acido palmitoleico (C16:1n9), arachidonico (C20:4n6), e docosapentaenoico (C22:5n3). Studi precedenti hanno trovato un contenuto più elevato di acido  $\alpha$ -linolenico (Kuttappan et al., 2012; Soglia et al., 2016; Gratta et al., 2019) e acidi grassi n-3 totali (Gratta et al., 2019), associati a processi infiammatori e danni al sarcolemma, negli animali sottoposti a stress termico cronico. In letteratura è stato osservato che l'esposizione al calore altera i profili degli acidi grassi muscolari (Tavaniello et al., 2020) con un aumento dei PUFA n-3 negli animali tenuti ad alte temperature.

Per quanto riguarda la differenza tra sessi, nel nostro studio, nelle femmine risultano maggiori e percentuali di acidi palmitico, vaccenico e oleico, mentre nei maschi sono maggiori acido linoleico, acido  $\gamma$ -linoleico e acidi grassi n-6 totali. Quindi, la percentuale di SFA nelle femmine è maggiore rispetto ai maschi con un aumento del rapporto PUFA/SFA. Questo rapporto può essere utilizzato come un indice per valutare l'effetto della dieta sulla salute del sistema cardio circolatorio; dovrebbe corrispondere a 0,45, limite massimo per gli alimenti che possono aumentare le probabilità di malattie cardiovascolari (Burghardt et al., 2010; Chen e Liu, 2020).

**Tabella 6.** Risultati di macellazione e dissezione delle carcasse di polli alimentati con diete contenenti diversi livelli di Clorella, in due stanze a diversa temperatura, e dei due sessi

	Dieta (D)			Temperatura (T)		Sesso (S)		P value							MSE
	C0	C3	C6	H	L	F	M	D	T	S	DxT	DxS	TxS	DxTxS	
Polli (n)	36	36	36	54	54	54	54								
Peso carcassa fredda (g)	1812	1830	1790	1796	1825	1681	1940	0,20	0,11	<0,001	0,95	0,04	0,27	0,69	93,4
Resa di macellazione (% PV)	72,9	72,5	73,0	72,8	72,8	73,6	72,0	0,50	0,99	<0,001	0,28	0,38	0,20	0,70	1,82
Dissezione della carcassa															
Petto (% CF)	38,2 <sup>a</sup>	39,2 <sup>ab</sup>	39,6 <sup>b</sup>	38,4	39,7	39,9	38,1	0,001	0,001	<0,001	0,45	0,16	0,78	0,88	1,93
<i>P. major</i> (% CF)	24,1 <sup>a</sup>	25,0 <sup>ab</sup>	25,3 <sup>b</sup>	24,5	25,1	25,5	24,1	0,001	0,04	<0,001	0,25	0,02	0,72	0,47	1,62
Ali (% CF)	10,0	10,1	10,0	10,1	10,0	10,0	10,0	0,88	0,41	0,89	0,37	0,37	0,37	0,37	0,49
Arti posteriori (% CF)	31,1	30,6	30,1	31,5	29,75	29,9	31,3	0,07	<0,001	0,01	0,28	0,56	0,16	0,16	1,88

**Tabella 7.** Frequenza delle diverse miopatie all'esame macroscopico del petto i polli alimentati con diete contenenti diversi livelli di Clorella, in due stanze a diversa temperatura, e dei due sessi

	Dieta (D)			Temperatura (T)		Sesso(S)		P value		
	C0	C3	C6	H	L	F	M	D	T	S
Polli, n	60	60	60	90	90	90	90			
White striping, %	21,7	20,0	35,0	26,7	24,4	26,7	24,4	0,12	0,73	0,73
Wooden breast, %	13,4	11,7	1,67	10,0	7,78	5,56	12,2	0,05	0,60	0,12
Spaghetti meat, %	16,7	23,3	15,0	20,0	16,7	28,9	7,78	0,46	0,56	0,01

**Tabella 8.** Caratteristiche reologiche del muscolo *Pectoralis major* di polli alimentati con diete contenenti diversi livelli di Clorella, in due stanze a diversa temperatura, e dei due sessi

	Dieta (D)			Temperatura (T)		Sesso (S)		P value							MSE
	C0	C3	C6	H	L	F	M	D	T	S	DxT	DxS	TxS	DxTxS	
Polli (n)	36	36	36	54	54	54	54								
pH	5,89	5,90	5,89	5,92	5,86	5,89	5,88	0,91	0,01	0,65	0,85	0,86	0,15	0,48	0,11
L*	50,7 <sup>a</sup>	49,6 <sup>ab</sup>	48,9 <sup>b</sup>	49,9	49,5	49,6	49,9	0,01	0,41	0,46	0,95	0,86	0,24	0,12	2,12
a*	0,3 <sup>a</sup>	1,65 <sup>b</sup>	2,23 <sup>c</sup>	1,41	1,39	1,39	1,41	<0,001	0,83	0,88	0,63	0,60	0,12	0,07	0,67
b*	10,9 <sup>a</sup>	15,9 <sup>b</sup>	18,9 <sup>c</sup>	15,1	15,4	15,3	15,1	<0,001	0,47	0,75	0,85	0,53	0,06	0,13	1,90
Perdite di scongelamento %	11,9	11,9	12,01	11,4	12,5	11,6	12,3	0,94	0,01	0,18	0,08	0,48	0,91	0,97	2,77
Perdite di cottura %	26,9	26,7	27,2	28,1	25,8	26,7	27,2	0,78	<0,001	0,46	0,16	0,90	0,50	0,69	3,13
Sforzo di taglio kg/g	2,73	2,57	2,58	2,8	2,52	2,62	2,64	0,40	0,25	0,84	0,52	0,85	0,99	0,99	0,57
Durezza (N)	103	89,7	99,3	100,4	94,3	97,7	97,0	0,05	0,36	0,88	0,11	0,90	0,94	0,65	23,5
Elasticità	1,61	1,62	1,65	1,6	1,60	1,62	1,63	0,89	0,49	0,85	0,64	0,93	0,49	0,39	0,37
Coesione	0,62	0,60	0,62	0,62	0,61	0,61	0,62	0,40	0,94	0,43	0,67	0,81	0,91	0,34	0,06
Masticabilità	98,7	83,0	95,4	100,5	84,2	91,6	91,1	0,07	0,05	0,79	0,05	0,88	0,64	0,50	30,0

**Tabella 9.** Composizione chimica del muscolo *Pectoralis major* di polli alimentati con diete contenenti diversi livelli di Clorella, in due stanze a diversa temperatura, e dei due sessi

	Dieta (D)			Temperatura (T)		Sesso (S)		P value							MSE
	C0	C3	C6	H	L	F	M	D	T	S	DxT	DxS	TxS	DxTxS	
Umidità, %	75,3	75,5	75,3	75,6	75,2	75,3	75,5	0,71	0,12	0,20	0,88	0,89	0,11	0,39	0,90
Proteine, %	21,7	21,7	21,8	21,5	21,9	21,9	21,6	0,77	0,06	0,13	0,32	0,92	0,81	0,14	0,79
Grassi, %	1,99	1,68	1,72	1,86	1,73	1,79	1,80	0,25	0,44	0,94	0,36	0,85	0,06	0,27	0,69
Ceneri, %	1,13	1,13	1,14	1,11	1,16	1,15	1,12	0,52	<0,001	0,05	0,22	0,58	0,91	0,36	0,04

**Tabella 10.** Profilo degli acidi grassi (AG) (% degli acidi grassi totali) nel muscolo *Pectoralis major* di polli alimentati con diete contenenti diversi livelli di Clorella, in due stanze a diversa temperatura, e dei due sessi

	Dieta (D)			Temperatura (T)		Sesso (S)		Valore P							MSE
	C0	C3	C6	H	L	F	M	D	T	S	Dxt	DxS	T×S	D×T×S	
C16:0	22,9	23,1	22,9	23,1	22,8	23,2	22,8	0,11	0,20	0,03	0,08	0,88	0,17	0,004	0,79
C18:0	6,62	6,44	6,36	6,33	6,62	6,57	6,38	0,38	0,06	0,22	0,03	0,78	0,10	0,31	0,67
C20:0	0,14 b	0,13 b	0,14ab	0,14	0,14	0,14	0,14	0,05	0,68	0,98	0,40	0,96	0,06	0,09	0,02
Altri SFA	1,30	1,28	1,29	1,30	1,28	1,28	1,29	0,80	0,32	0,61	0,49	0,87	0,14	0,49	0,09
C18:1n9	33,4	33,0	33,0	33,0	33,2	33,5	32,8	0,39	0,50	0,02	0,56	0,57	0,36	0,01	1,17
C18:1n7	1,61 a	1,66 ab	1,70 b	1,65	1,67	1,70	1,61	0,04	0,64	0,004	0,92	0,94	0,58	0,29	0,12
Altri MUFA	5,37	5,55	5,14	5,49	5,22	5,29	5,41	0,13	0,06	0,34	0,31	0,99	0,29	0,09	0,63
C18:2n6	25,0	25,0	24,9	24,9	25,0	24,5	25,5	0,96	0,96	0,01	0,23	0,70	0,71	0,01	1,51
C18:3n3	2,13 <sup>b</sup>	2,24 <sup>ab</sup>	2,34 <sup>b</sup>	2,29	2,19	2,19	2,29	0,01	0,04	0,05	0,03	0,69	0,45	0,003	0,21
Altri PUFA	1,83	1,71	1,82	1,74	1,83	1,74	1,84	0,25	0,17	0,17	0,76	0,90	0,58	0,93	0,27
Totale SFA	30,9	30,9	30,7	30,9	30,9	31,2	30,6	0,781	0,92	0,04	0,03	0,79	0,06	0,01	1,23
Totale MUFA	40,1	40,1	40,3	40,2	40,1	40,5	39,9	0,935	0,92	0,13	0,83	0,80	0,27	0,04	1,61
Totale PUFA	28,9	29,0	28,0	29,0	29,0	28,4	29,6	0,986	0,98	0,01	0,15	0,74	0,74	0,01	1,80
n3	2,56 <sup>b</sup>	2,66 <sup>ab</sup>	2,78 <sup>b</sup>	2,74	2,59	2,60	2,63	0,03	0,03	0,06	0,02	0,62	0,62	0,01	0,28
n6	26,4	26,3	26,2	26,2	26,4	25,8	25,8	0,955	0,67	0,01	0,23	0,78	0,77	0,01	1,59
PUFA/SFA	0,94	0,94	0,95	0,94	0,94	0,91	0,97	0,926	0,91	0,01	0,05	0,84	0,28	0,01	0,08
n6/n3	10,4 <sup>b</sup>	9,95 <sup>ab</sup>	9,51 <sup>b</sup>	9,65	10,3	10,0	9,91	0,0004	0,001	0,60	0,01	0,66	0,70	0,09	0,73

## Conclusioni

La domanda di alimenti di origine animale è in continua crescita da parte della popolazione, soprattutto la carne di pollo è tra gli alimenti più consumati al mondo e in continua espansione. Per far fronte al continuo aumento di materie prime proteiche necessarie per sostenere la produzione avicola, sono allo studio risorse alternative sostenibili e di alta qualità per sostituire in modo efficiente queste componenti, quali le microalghe.

Sulla base dei risultati del presente studio, l'inclusione nella dieta del 3% di Clorella può migliorare le prestazioni produttive, ma la qualità della carne è modificata solo da livelli di inclusione al 6%, con un aumento dell'intensità di colorazione del muscolo per le xantofille contenute nella microalga. L'aumento della temperatura, soprattutto nell'ultimo periodo, ha effetti negativi sulle prestazioni degli animali che non sono stati mitigati dall'inclusione della clorella. D'altra parte, si confermano le diverse prestazioni e caratteristiche qualitative di carcassa e carne fra i due sessi che sono diversamente sensibili alle diverse miopatie, con spagheti meat più frequente nelle femmine e wooden breast più frequente nei maschi.

In prospettiva, in attesa di un aumento della produzione delle microalghe che possa aumentare la disponibilità di questi prodotti e ridurre i costi di produzione, resta da valutare se gli effetti misurati con i diversi livelli di clorella si traducono e sono collegati a variazioni a livello intestinale di sviluppo della mucosa e risposta immunitaria, oltre che composizione del microbiota intestinale.



## Bibliografia

- Abdelnour, S. A., Abd El-Hack, M. E., Arif, M., Khafaga, A. F., Taha, A. E. 2019. The application of the microalgae *Chlorella* spp. as a supplement in broiler feed. *World's Poultry Science Journal* 75(2): 305-318.
- Abril, R., Garret, J., Zeller, S.G., Sander, W.J., Mast, R.W. 2003. Safety assessment of DHA-rich microalgae from *Schizochytrium* sp. Part V: target animal safety/toxicity study in growing swine. *Regul. Toxicol. Pharmacol* 37:73–82.
- Agrifort. 2022. Farine d'estrazione. Available at: <https://www.agrifort.it/farine-estrazione-per-allevamento.html> Accessed: 15/05/2023.
- Aiking, H., de Boer, J. 2020. The next protein transition. *Trends in Food Science & Technology* 105: 515–522.
- Alfaia, C. M., Pestana, J. M., Rodrigues, M., Coelho, D., Aires, M. J., Ribeiro, D. M., Major, V. T., Martins, C. F., Santos, H., Lopes, P. A., Lemos, J. P. C., Fontes, C. M. G. A., Lordelo, M. M., Prates J. A. M. 2021. Influence of dietary *Chlorella vulgaris* and carbohydrate-active enzymes on growth performance, meat quality and lipid composition of broiler chickens. *Poultry science* 100(2): 926–937.
- Al-Sagan, A. A., Khalil, S., Hussein, E. O., Attia, Y. A. 2020. Effects of fennel seed powder supplementation on growth performance, carcass characteristics, meat quality, and economic efficiency of broilers under thermoneutral and chronic heat stress conditions. *Animals* 10(2): 206.
- Amorim, M. L., Soares, J., Coimbra, J. S. D. R., Leite, M. O., Albino, L. F. T., Martins, M. A. 2021. Microalgae proteins: production, separation, isolation, quantification, and application in food and feed. *Critical reviews in food science and nutrition* 61(12): 1976–2002.
- An B. K., Kim K. E., Jeon J. Y., Lee, K. W. 2016. Effect of dried *Chlorella vulgaris* and *Chlorella* growth factor on growth performance, meat qualities and humoral immune responses in broiler chickens. *Springerplus* 5: 1-7.
- Anderson, D.W., Tang, C.S., Ross, E. 1991 The xanthophylls of spirulina and their effect on egg yolk pigmentation. *Poultry Science* 70:115-119.
- AOAC. 2000. International Official methods of analysis of AOAC International. 17th ed. Arlington, VA, USA. Association of Official Analytical Chemists.

Attuazione della direttiva 2007/43/CE che stabilisce norme minime per la protezione di polli allevati per la produzione di carne. (10G0198) Gazzetta Ufficiale n.259 del 5-11-2010.

Aviagen. 2018. Ross Broiler, Manuale di gestione. Available at [http://eu.aviagen.com/assets/Tech\\_Center/BB\\_Foreign\\_Language\\_Docs/Italian\\_TechDocs/Ross Broiler Handbook](http://eu.aviagen.com/assets/Tech_Center/BB_Foreign_Language_Docs/Italian_TechDocs/Ross_Broiler_Handbook). Accessed: 6/05/2023.

Banoch, T., Svoboda, M., Kuta, J., Salakova, A., Fajt, Z. 2012. The effect of iodine from iodine-enriched alga *Chlorella* spp. On the pork iodine content and meat quality in finisher pigs. *Acta Veterinaria Brno* 81(4):339-346

Becker, E. W. 2007. Micro-algae as a source of protein. *Biotechnology advances* 25(2): 207-210.

Blas-Valdivia, V., Ortiz-Butrón, R., Pineda-Reynoso, M., Hernández-García, A., Cano-Europa, E. 2011. *Chlorella vulgaris* administration prevents HgCl<sub>2</sub>-caused oxidative stress and cellular damage in the kidney. *Journal of Applied Phycology* 23: 53-58.

Bordignon, F., Xiccato, G., Boskovic Cabrol, M., Birolo, M., Trocino, A. 2022. Factors affecting breast myopathies in broiler chickens and quality of defective meat: a meta-analysis. *Frontiers in Physiology* 13: 1322.

Borges, S. A., Da Silva, A. F., Ariki, J., Hooge, D. M., Cummings, K. R. 2003. Dietary electrolyte balance for broiler chickens exposed to thermoneutral or heat-stress environments. *Poultry Science* 82(3): 428-435.

Boskovic Cabrol, M., Martins, J. C., Malhão, L. P., Alfaia, C. M., Prates, J. A., Almeida, A. M., Lordelo, M., Raymundo, A. 2022. Digestibility of meat mineral and proteins from broilers fed with graded levels of *Chlorella vulgaris*. *Foods* 11: 13-45.

Bratosin, B. C., Darjan, S., Vodnar, D. C. 2021. Single cell protein: A potential substitute in human and animal nutrition. *Sustainability* 13(16): 9284.

Bruno, L., Congestri, L. 2022, Università di Roma Tor Vergata, Dipartimento di Biologia: Applicazioni 'food' di microalghe e cianobatteri. Available at <http://bio.uniroma2.it/microalghe-e-cinaobatteri/> Accessed: 20/05/2023.

Burghardt, P. R., Kemmerer, E. S., Buck, B. J., Osetek, A. J., Yan, C., Koch, L. G., Britton, S. L., Evans, S. J. 2010. Dietary n-3: n-6 fatty acid ratios differentially influence hormonal signature in a rodent model of metabolic syndrome relative to healthy controls. *Nutrition & metabolism* 7: 53.

- Cabrol, M. B., Martins, J. C., Malhão, L. P., Alves, S. P., Bessa, R. J., Almeida, A. M., Raymundo, A., Lordelo, M. 2022. Partial replacement of soybean meal with *Chlorella vulgaris* in broiler diets influences performance and improves breast meat quality and fatty acid composition. *Poultry Science* 101: 101-955.
- Cerolini, S. 2008. Avicoltura, Allevamento del pollo da carne. In: I. Romboli, M. Marzoni Fecia di Cossato, A. Schiavone, L. Zaniboni, S. Cerolini (eds.) *Avicoltura e Coniglicoltura*. Le Point Veterinaire Italie, Milano, Italy. pp. 279-295.
- Cerolini, S. 2008. Avicoltura, Avicoltura intensiva e statistiche di produzione. In: I. Romboli, M. Marzoni Fecia di Cossato, A. Schiavone, L. Zaniboni, S. Cerolini (eds.) *Avicoltura e Coniglicoltura*. Le Point Veterinaire Italie, Milano, Italy. pp. 13-23.
- Chen, J., Liu, H. 2020. Nutritional indices for assessing fatty acids: A mini review. *International Journal of Molecular Sciences* 21(16): 5695.
- Costello, C., Cao, L., Gelcich, S., Cisneros-Mata, M.A., Free, C. M., Froehlich, H. E., Lubchenco J. 2020. The future of food from the sea. *Nature* 588(7836): 95–100.
- Debut, M., Berri, C., Arnould, C., Guemené, D., Santé-Lhoutellier, V., Sellier, N., Baéza, E., Jehl, N., Jégo, Y., Beaumont, C., Le Bihan-Duval, E. 2005. Behavioural and physiological responses of three chicken breeds to pre-slaughter shackling and acute heat stress. *British Poultry Science* 46(5): 527–535.
- Direttiva 2007/43/CE. Direttiva 2007/43/CE del Consiglio, del 28 giugno 2007, che stabilisce norme minime per la protezione dei polli allevati per la produzione di carne (Testo rilevante ai fini del SEE). *Gazzetta ufficiale n. L 182/19 del 12/07/2007*.
- Dlouha, G., Sevcikova, S., Dokoupilova, A., Zita, L., Heindl, I., Skrivan, M. 2008 Effect of dietary selenium sources on growth performance, breast muscle selenium, glutathione peroxidase activity and oxidative stability in broilers. *Czech Journal of Animal Science* 53: 265-269.
- El-Bahr, S., Shousha, S., Shehab, A., Khattab, W., Ahmed-Farid, O., Sabike, I., El-Garhy, O., Albokhadaim, I., Albosadah, K. 2020. Effect of dietary microalgae on growth performance, profiles of amino and fatty acids, antioxidant status, and meat quality of broiler chickens. *Animals* 10(5): 761.
- EL-Sabagh, M. R., Abd Eldaim, M. A., Mahboub, D. H., Abdel-Daim, M. 2014. Effects of *Spirulina platensis* algae on growth performance, antioxidative status and blood metabolites in fattening lambs. *Journal of Agricultural Science* 6(3): 92.

- Englmaierova, M., Skrivan, M., Bubancova, I. 2013 A comparison of lutein, spray-dried chlorella, and synthetic carotenoids effects on yolk colour, oxidative stability, and reproductive performance of laying hens. *Czech Journal of Animal Science* 58: 412-419.
- Evans, A. M., Smith, D. L., Moritz, J. S. 2015. Effects of algae incorporation into broiler starter diet formulations on nutrient digestibility and 3 to 21 d bird performance. *Journal of Applied Poultry Research* 24(2): 206-214.
- Food Hub. 2022, Le Microalghe: oro verde del futuro dell'industria alimentare. Available at <https://www.food-hub.it/media/2021/10/15/le-microalghe-futuro/> Accessed: 7/05/2023.
- Franklin, S.T., Martin, K.R., Baer, R.J., Schingoethe, D.J., Hippen, A.R. 1999. Dietary marine algae (*Schizochytrium* sp.) increased concentrations of conjugated linoleic, docosahexaenoic and transvaccenic acids in milk of dairy cows. *The Journal of Nutrition* 129(11): 2048–2054
- Gous, R. M., Morris, T. R. 2005. Nutritional interventions in alleviating the effects of high temperatures in broiler production. *World's Poultry Science Journal* 61(3), 463-475.
- Gratta, F., Fasolato, L., Birolo, M., Zomeño, C., Novelli, E., Petracci, M., Pascual, A., Xiccato, G., Trocino, A. 2019. Effect of breast myopathies on quality and microbial shelf life of broiler meat. *Poultry Science* 98(6): 2641–2651.
- Grinstead, G.S., Tokach, M.D., Dritz, S.S., Goodband, R.D., Nelssen, J.L. 2000. Effects of *Spirulina platensis* on growth performance of weanling pigs. *Animal Feed Science and Technology* 83(3):237-247.
- Gyenis, B., Szigeti, J., Molnár, N., Varga, L. 2005. Use of dried microalgal biomasses to stimulate acid production and growth of *Lactobacillus plantarum* and *Enterococcus faecium* in milk. *Acta Agraria Kaposváriensis* 9(2): 53–9.
- Herrero, M., Havlík, P., Valin, H., Notenbaert, A., Rufino, M. C., Thornton, P. K., Blümmel, M., Weiss, F., Grace, D., Obersteiner, M. 2013. Biomass use, production, feed efficiencies, and greenhouse gas emissions from global livestock systems. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 110(52): 20888–20893.
- Holman, B.W.B., Kashani, A., Malau-Aduli, A.E.O. 2012. Growth and body conformation responses of genetically divergent Australian sheep to *Spirulina* (*Arthrospira platensis*) supplementation. *American Journal of Experimental Agriculture* 2: 160–173.

Holman, B.W.B., Kashani, A., Malau-Aduli, A.E.O. 2014. Effects of Spirulina (*Arthrospira platensis*) supplementation level and basal diet on liveweight, body conformation and growth traits in genetically divergent Australian dual-purpose lambs during simulated drought and typical pasture grazing. *Small Ruminant Research* 120: 6–14.

Hu, X., Guo, Y. 2008. Corticosterone administration alters small intestinal morphology and function of broiler chickens. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences* 21(12): 1773-1778.

International Poultry Council. 2022. Indicatori macroeconomici globali per l'industria delle carni di pollame. Available at: <https://internationalpoultrycouncil.org/resources> Accessed: 10/05/2023.

ISMEA. 2023. Tendenze avicoli 2022. Available at: <https://www.ismeamercati.it/flex/cm/pages/ServeBLOB.php/L/IT/IDPagina/12115> Accessed: 05/05/2023.

Janczyk, P., Franke, H., Souffrant, W. B. 2007. Nutritional value of *Chlorella vulgaris*: effects of ultrasonication and electroporation on digestibility in rats. *Animal Feed Science and Technology* 132(1-2): 163-169.

Janczyk, P., Halle, B., Souffrant, W.B. 2009. Microbial community composition of the crop and ceca contents of laying hens fed diets supplemented with *Chlorella vulgaris*. *Poultry Science* 88: 2324-2332.

Kang, H.K., Salim, H.M., Akter, N., Kim, D.W., Kim, J.H., Bang, H.T., NA J.C., Hwangbo, J., Choi, H.C., Kim, M.J., Suh, O.S. 2013. Effect of various forms of dietary *Chlorella* supplementation on growth performance, immune characteristics, and intestinal microflora population of broiler chickens. *The Journal of Applied Poultry Research* 22: 100-108.

Khan, I. A., Parker, N. B., Löhr, C. V., Cherian, G. 2021. Docosahexaenoic acid (22: 6 n-3)-rich microalgae along with methionine supplementation in broiler chickens: Effects on production performance, breast muscle quality attributes, lipid profile, and incidence of white striping and myopathy. *Poultry Science* 100(2): 865-874.

Kulkarni, S., Nikolov, Z. 2018. Process for selective extraction of pigments and functional proteins from *Chlorella vulgaris*. *Algal Research* 35, 185-193.

Kuttappan, V. A., Brewer, V. B., Apple, J. K., Waldroup, P. W., Owens, C. M. 2012. Influence of growth rate on the occurrence of white striping in broiler breast fillets. *Poultry Science* 91(10): 2677-2685.

- Lameri Feed. 2022. Farina di estrazione di soia proteica. Available at <https://lameri-feed.it/portfolio-view/farina-estrazione-soia-proteica/> Accessed: 10/05/2023.
- Larkum, A. W. D. 2010. Limitations and prospects of natural photosynthesis for bioenergy production. *Current Opinion in Biotechnology* 21(3): 271–276.
- Mariey, Y.A., Samak, H.R., Ibrahim, M.A. 2012. Effect of using spirulina platensis algae as a feed additive for poultry diets. 1. productive and reproductive performances of local laying hens. *Egyptian Poultry Science Journal* 32: 201-215.
- Mariey, Y.A., Samak, H.R., Abou-Khashba, H.A., Sayed, M.A.M., Abou-Zeid, A.E. 2014. Effect of using Spirulina platensis algae as a feed additive for poultry diets. *Egyptian Poultry Science Journal* 34: 245-258.
- Mendes, R. L., Nobre, B. P., Cardoso, M. T., Pereira, A. P., Palavra, A. F. 2003. Supercritical carbon dioxide extraction of compounds with pharmaceutical importance from microalgae. *Inorganica Chimica Acta* 356: 328-334.
- Mudalal, S., Lorenzi, M., Soglia, F., Cavani, C., Petracchi, M. 2015. Implications of white striping and wooden breast abnormalities on quality traits of raw and marinated chicken meat. *Animal* 9(4): 728-734.
- Oh, S.T., Zheng, L., Kwon, H.J., Choo, Y.K., Lee, K.W., Kang, C.W., An, B.K. 2015. Effects of dietary fermented *Chlorella vulgaris* (CBT) on growth performance, relative organ weights, cecal microflora, tibia bone characteristics, and meat qualities in Pekin ducks. *Asian Australas. Journal Animal. Science* 28: 95–101.
- Olfati, A., Mojtahedin, A., Sadeghi, T., Akbari, M., Martínez-Pastor, F. 2018. Comparison of growth performance and immune responses of broiler chicks reared under heat stress, cold stress and thermoneutral conditions. *Spanish Journal of Agricultural Research* 16(2): 505.
- Peiretti, P.G., Meineri, G. 2008. Effects of diets with increasing levels of *Spirulina platensis* on the performance and apparent digestibility in growing rabbits. *Livestock Science* 118: 173–177.
- Petracci, M., Baéza, E. 2011. Harmonization of methodologies for the assessment of poultry meat quality features. *World's Poultry Science Journal* 67(1): 137-153.
- Quinteiro-Filho, W. M., Rodrigues, M. V., Ribeiro, A., Ferraz-de-Paula, V., Pinheiro, M. L., Sá, L. R., Ferreira, A. J., Palermo-Neto, J. 2012. Acute heat stress impairs performance parameters and

induces mild intestinal enteritis in broiler chickens: role of acute hypothalamic-pituitary-adrenal axis activation. *Journal of Animal Science* 90(6): 1986–1994.

Sanchez, M., Bernal-Castillo, J., Rozo, C., Rodríguez, I. 2003. *Spirulina* (Arthrospira): an edible microorganism: a review. *Universitas Scientiarum* 8(1): 7-24.

Shekharam, K. M., Venkataraman, L. V., Salimath, P. V. 1987. Carbohydrate composition and characterization of two unusual sugars from the blue green alga *Spirulina platensis*. *Phytochemistry* 26(8): 2267-2269.

Sihvo, H. K., Immonen, K., Puolanne, E. 2014. Myodegeneration with fibrosis and regeneration in the pectoralis major muscle of broilers. *Veterinary pathology* 51(3): 619-623.

Simkus, A., Simkiene, A., Cernauskiene, J., Kvietkute, N., Cernauskas, A., Paleckaitis, M., Kerziene, S. 2013. The effect of blue algae *Spirulina platensis* on pig growth performance and carcass and meat quality. *Veterinary Medicine and Zootechnics* 61: 83.

Soglia, F., Laghi, L., Canonico, L., Cavani, C., Petracci, M. 2016. Functional property issues in broiler breast meat related to emerging muscle abnormalities. *Food Research International* 89: 1071-1076.

Świątkiewicz, S., Arczewska-Włosek, A., Józefiak, D. 2015. Application of microalgae biomass in poultry nutrition. *World's Poultry Science Journal* 71(4): 663-672.

Tavaniello, S. 2019. Influence of rearing system and sex on carcass traits and meat quality of broiler chickens. *Journal of Applied Animal Research* 47(1): 333-338.

Toyomizu, M., Sato, K., Taroda, H., Kato, T., Akiba, Y. 2001. Effects of dietary *Spirulina* on meat colour in muscle of broiler chickens. *British Poultry Science* 42(2): 197-202.

Trocino, A., Piccirillo, A., Birolo, M., Radaelli, G., Bertotto, D., Filiou, E., Petracci, M., Xiccato, G. 2015. Effect of genotype, gender and feed restriction on growth, meat quality and the occurrence of white striping and wooden breast in broiler chickens. *Poultry Science* 94(12): 2996–3004.

Unaitalia. 2022. Annata avicola 2021. Available at: <https://www.unaitalia.com/mercato/annata-avicola/> Accessed: 20/05/2023

Unaitalia. 2022. Poultry Forum a Forli, focus Ismea su consumi e costi del comparto avicolo 2022. Available at: <https://www.unaitalia.com/poultry-forum-a-forli-focus-ismea-su-consumo-e-costi-del-comparto-avicolo/> Accessed: 15/05/2023.

World's Poultry Science Association. Working Group No. 5 1984. Method of dissection of broiler carcasses and description of parts (ed. J. Fris Jensen), Frederiksberg Copenhagen, Denmark, Papworth Everard, Cambridge, UK.

Yamaguchi, K. 1996. Recent advances in microalgal bioscience in Japan, with special reference to utilization of biomass and metabolites: a review. *Journal of Applied Phycology* 8: 487-502.

Yan, L., Lim, S.U., Kim, I.H. 2012. Effect of fermented *Chlorella* supplementation on growth performance, nutrient digestibility, blood characteristics, fecal microbial and fecal noxious gas content in growing pigs. *Asian-Aust. Journal Animal Science* 25: 1742–1747.

Zaboli, G., Huang, X., Feng, X., Ahn, D. U. 2019. How can heat stress affect chicken meat quality? a review. *Poultry Science* 98(3): 1551-1556.