

## **Indagini nutrizionali sulla Toprina (lieviti coltivati su n-paraffine)**

R. ALIMENTI, G. ANTONUCCI, M.P. BERNARDINI (a), W. BIANCHI (a), L. BONIFORTI, B. CACCIAPUOTI (a), G. CAVINA, G. CITTI (a), F. COTTA-RAMUSINO, G. D'AGNOLO, P. DELLE FEMMINE, I. FATTORI (a), G. GALLI, B. GALLINELLA (a), L. GATTI, R. GIORDANO, E. GIOVENALE (a), A. MACRÌ, P. MASTRANTONIO, G. MORETTI, G. MORISI, A. NANNI, G. NUSDORFI, W. PACE (a), E. PALLIOLA, E. PAOLETTI (a), G. PICCININNO, A. RICCI (a), S. SALVATI, A. SAMPAOLO, G. SERLUPI-CRESCENZI, V. SILANO, F. TAGGI, A. TONOLO, G. TIECCO, L. TUTTOBELLO, F. VALFRÈ (b) e C. VENDRAMIN.

*Istituto Superiore di Sanità*

E. BERGONZINI, A. BORGHESE, R. FABBRI, F. MALOSSINI, F. MARTILLOTTI, M.P. MAZZIOTTI DI CELSO e C. PICCHIANI

*Istituto Sperimentale per la Zootecnia*

M.A. SPADONI, P. TAGLIAMENTI e G. TOMASSI

*Istituto Nazionale della Nutrizione*

### **INTRODUZIONE**

Nel 1970 la Società Italproteine chiese al Ministero della Sanità l'inclusione nella lista degli additivi alimentari ad uso zootecnico di un prodotto denominato «Toprina», ottenuto mediante coltivazione su n-paraffine di lieviti appartenenti al genere *Candida*. Il Ministero della Sanità, pose un quesito in merito all'Istituto Superiore di Sanità che espresse un parere positivo vincolato all'esito di una sperimentazione da effettuarsi presso questo Istituto.

In data 21 maggio 1973 fu avviato, da parte dell'Istituto Superiore di Sanità un piano di ricerca consistente di una parte chimico-analitica e di una zootecnico-biochimica.

---

(a) Ospite dell'Istituto Superiore di Sanità

(b) Indirizzo attuale: Cattedra di Alimentazione e Nutrizione Animale dell'Università di Perugia.

Questo lavoro concerne i risultati delle ricerche zootecnico-biochimiche effettuate su suini e vacche da latte condotte a termine nel 1975. Esse tendevano, a controllare:

- a) l'assenza di effetti clinici e zootecnici indesiderabili sugli animali, quali stati anemici, mastiti, turbe nelle funzioni riproduttive, ecc. derivanti dalla presenza della Toprina nella dieta;
- b) il quadro anatomico-istologico e tossicologico delle carni e degli organi degli animali trattati;
- c) l'assenza di residui derivanti dalla Toprina nei tessuti animali e nel latte;
- d) la qualità delle produzioni animali;
- e) le caratteristiche organolettiche degli insaccati e prosciutti ottenuti da suini trattati e dei formaggi ottenuti dal latte di vacche trattate.

## PARTE SPERIMENTALE

### 1. - *Sperimentazione su suini*

#### 1.1. - *Prove zootecniche.*

La prova è stata effettuata in una delle porcilaie del Centro Genetico Suini, abbinato alla Sezione Operativa di Modena dell'Istituto Sperimentale per la Zootecnia, nella quale la temperatura è mantenuta costante a 21-22 °C e l'umidità relativa al 70% ed è altresì assicurato il ricambio di aria.

Si è operato su quattro gruppi, ciascuno formato da 8 maschi e 8 femmine (castrati i maschi, intere le femmine), ai quali sono state somministrate tre diete semisintetiche ed una di riferimento. Dei primi tre gruppi uno ha ricevuto la sola Toprina quale fonte di azoto, un altro la sola farina di estrazione di soja ed il terzo in parte Toprina ed in parte soja. Il quarto gruppo è stato alimentato con una dieta tradizionale, nella quale l'integrazione proteica si è ottenuta con Toprina, e ciò allo scopo di accertare se eventuali carenze o anomalie nei prodotti animali dei primi tre gruppi avrebbero dovuto essere attribuite alle diete semisintetiche. La formulazione delle razioni è riportata nel testo.

La somministrazione giornaliera delle razioni è stata effettuata in due volte in forma umida, miscelando 2,5 kg di acqua per ogni kg di sfarinato.

Ogni quattordici giorni tutti i soggetti sono stati pesati onde controllarne l'accrescimento. Si è poi anche provveduto a prelevare un campione di sangue prima dell'inizio della somministrazione della Toprina, nel corso della prova e avanti l'abbattimento, per eseguire il dosaggio della emoglobina e la conta dei globuli rossi e bianchi.

Dal punto di vista sanitario è da precisare che si è avuto il decesso di un suino per polmonite.

### 1.2. - *Analisi del sangue.*

Il sangue fu prelevato dalla vena giugulare e trattato con EDTA-K<sub>2</sub> per impedirne la coagulazione. I globuli rossi sono stati contati con l'ausilio della camera di Thoma. Il dosaggio dell'emoglobina è stato effettuato in accordo a Levinson e Mc Fate [1].

### 1.3. - *Esame istologico.*

Dagli animali appena abbattuti sono stati immediatamente prelevati parti di tessuto, organi e visceri, che sono state fissate in formalina salata di Policard al 10% ed incluse in paraffina. Le sezioni istologiche ottenute sono state colorate con i metodi istologici convenzionali (Ematossilina, Eosina, Van Gieson, Mallory, ecc. [2].

### 1.4. - *Prosciutti ed insaccati.*

L'esame batteriologico di questi prodotti è stato effettuato in accordo alle metodiche descritte da Castagnoli e Tiecco [3].

## 2. - *Composizione chimica di tessuti dei suini alimentati con Toprina*

### 2.1. - *Paraffine.*

Una quantità pesata di tessuto è stata omogeneizzata con solfato di sodio anidro ed estratta in Soxhlet per 6 h con etere etilico. Dopo cauta evaporazione dell'etere, con l'impiego di una piccola colonna di rettifica a ricadere, il residuo è stato saponificato con potassa alcoolica, a ricadere per un'ora. La soluzione così ottenuta è stata estratta per tre volte con il pentano.

L'estratto pentanico è stato concentrato fino a piccolo volume (0,5 ml) e sulla soluzione residua si è effettuata l'analisi gas-cromatografica alle condizioni sperimentali descritte nel presente volume.

### 2.2. - *Lipidi totali e fosfolipidi.*

2.2.1. - *Estrazione dei lipidi totali.* - I tessuti conservati a - 20 °C sono stati trasferiti 24-48 ore prima dell'analisi a 4 °C. Quindi, circa 10 g di tessuto sono stati omogeneizzati per circa 15 min con 50 ml di cloroformio-metanolo (2 : 1 v/v). L'omogenato è stato, quindi, trasferito quantitativamente in un cilindro da 200 ml con cloroformio-metanolo (2 : 1 v/v) ed il

volume aggiustato a 200 ml (soluzione SLT). La soluzione è stata poi filtrata attraverso carta esente da grassi in un cilindro graduato. Si è misurato il volume di estratto filtrato ( $V_f$ ) e si è aggiunto il 20% in volume di acqua e, dopo agitazione, si è lasciato riposare (circa 20-24 h) per consentire la separazione di due fasi. La fase inferiore, costituita prevalentemente da cloroformio, contiene i lipidi estratti e quella superiore, costituita prevalentemente da metanolo ed acqua, contiene le sostanze non lipidiche che devono essere eliminate. La fase superiore è stata rimossa sifonando, in modo da non disturbare la fase inferiore, si è lavata 1-2 volte l'interfacie con 3-4 ml della miscela cloroformio-metanolo-acqua (3 : 48 : 47 v/v), lasciandola cadere lentamente lungo le pareti, in modo che il liquido di lavaggio non si mescolasse con la fase inferiore. Si è rimossa poi la miscela di lavaggio. Si può aggiungere qualche goccia di metanolo per chiarificare. L'estratto è stato riportato al volume  $V_f$  aggiungendo cloroformio-metanolo (2 : 1 v/v) (Soluzione SLT). Con questo procedimento, secondo lo schema originale di Folch, Lees e Sloane-Stanley [4] si è ottenuto un recupero di lipidi totali e fosfolipidi di almeno il 98-99 %.

L'estratto cloroformico (SLT) è stato conservato in frigorifero in recipienti ben chiusi, per le successive analisi.

2.2.2. - *Analisi gravimetrica dei lipidi totali.* - Questa analisi è stata eseguita per pesata alla bilancia analitica (Mettler). Sono stati tarati palloncini da 100 ml con collo a smeriglio lasciandoli in stufa a 110 °C per 2 h e, quindi, in essiccatore per 20 min circa. Il trattamento è stato ripetuto fino ad ottenere un peso costante. Si è prelevata una parte dell'estratto SLT (corrispondente a circa 100-200 mg di residuo lipidico) trasferendola in un palloncino tarato e si è evaporato a secco sotto pressione ridotta in b.m. a circa 50 °C. È stata quindi ripetuta la metodica già eseguita per la taratura fino a peso costante.

2.2.3. - *Separazione cromatografica dei fosfolipidi dai lipidi totali.* - Una parte di estratto SLT pari a circa 10 mg di lipidi totali è stato portato a secco sotto corrente di azoto in b.m. a 40 °C ed il residuo è stato ripreso immediatamente con 5 ml di cloroformio. Per la separazione si è usata una colonnina di acido silicico preparata come segue.

Si è compresso sul fondo di una colonnina per cromatografia di vetro (lunga 18 cm, diam. 8 mm, con collo a smeriglio) un batuffolo di cotone sgrassato, e sopra si è versata una sospensione ottenuta da 1 g di acido silicico Mallinckroft 100 mesh e 5 ml di cloroformio e si è lasciato sedimentare. L'acido silicico è stato, quindi, compresso con un altro batuffolo di cotone sgrassato, facendo bene attenzione che non restassero bolle d'aria che potessero rendere discontinua la fase liquida.

La soluzione del campione è stata caricata sulla colonna, eluendo poi con cloroformio, fino ad un totale di 50 ml, che sono stati raccolti in un recipiente tarato. L'eluizione è stata fatta avvenire lentamente con un flusso di circa 0,5 ml/min. Si è fatta seguire quindi l'eluizione con 50 ml di metanolo ad un flusso minore, pari a circa 0,2-0,25 ml/min, raccogliendo in un pallone tarato da 50 ml. Le due frazioni contengono rispettivamente: lipidi neutri la prima ed i fosfolipidi la seconda. Su campioni di 1-2 ml di ciascuna frazione evaporati a secco in provettine a punta conica, si esegue il controllo di purezza mediante cromatografia su strato sottile con i sistemi per rivelare sia i lipidi neutri che i fosfolipidi. Dopo tale verifica, le frazioni possono essere destinate all'analisi gas-cromatografica sugli esteri metilici degli acidi grassi, come più avanti descritto oppure al dosaggio del fosforo lipidico secondo il metodo di Bartlett [5] modificato da Marinetti [6].

### 2.3. - *Acidi grassi.*

2.3.1. - *Acidi grassi totali.* — Una quantità pesata di tessuto è stata estratta con miscela cloroformio-metanolo (2:1) come descritto in 2.2.1. Dopo l'eliminazione del solvente in evaporatore rotante sotto vuoto, il residuo è stato interesterificato per ebollizione a ricadere per tre ore con 25 ml di metanolo-ac. solforico (96:4 p/p). La soluzione è stata trasferita in imbuto separatore, diluita con 150 ml di acqua ed estratta per tre volte con 50 ml di esano. Gli estratti esanici riuniti sono stati lavati con acqua ed essiccati con solfato di sodio anidro. Dopo distillazione dell'esano, gli acidi grassi sono stati analizzati per gas-cromatografia, nelle condizioni descritte da Boniforti e Coll. (pag. 473).

2.3.2. - *Acidi grassi delle frazioni lipidiche dei tessuti.* — Le frazioni lipidiche opportunamente separate sono state interesterificate e analizzate come descritto in 2.3.1.

### 2.4. - *Amminoacidi ed antigeni.*

Gli amminoacidi liberi del tessuto epatico sono stati estratti omogenizzando il tessuto epatico con 3% acido tricloroacetico (1:10 p/v). Dopo centrifugazione l'estratto limpido è stato portato a pH 2 con potassa ed analizzato con la tecnica descritta da Morisi e Coll. (pag. 491) per gli amminoacidi liberi.

Gli estratti del tessuto epatico, pancreatico ed intestinale di suino per l'analisi di immunodiffusione con il siero anti-Toprina furono ottenuti omogenizzando il tessuto in 0,15 M NaCl (1:10 p/v). Dopo centrifugazione il supernatante limpido fu liofilizzato, ridisciolto in acqua alla concentrazione di 20 mg/ml ed analizzato in doppia immunodiffusione, come descritto da Silano a pag. 577.

## 2.5. - *Oligoelementi.*

2.5.1. - *Piombo, cadmio e antimonio.* — Circa 1,0 g di campione sono stati mineralizzati con 10 ml di miscela di acido nitrico, perclorico e solforico (24 : 24 : 1 v/v/v) riscaldando a temperatura crescente (fino a 200°) per due ore. Si è evaporato, quindi, in corrente di aria filtrata l'eccesso di acido, aggiustato il pH a 1,7-2,0 con ammoniacca ed aggiunto 1 ml di soluzione all'1% di ammonio pirrolidin ditiocarbammato. Questa soluzione è stata estratta con 1,0 ml di metilisobutilchetone.

La soluzione chetonica è stata analizzata con la tecnica dell'assorbimento atomico senza fiamma in forno di grafite. I limiti di rivelabilità (riferiti al prodotto di partenza) sono: Pb (10 ppb); Cd (0,2 ppb); Sb (20 ppb).

2.5.2. - *Mercurio.* — Circa 2 g di prodotto sono stati mineralizzati secondo il metodo ufficiale allegato al D.M. 14 dicembre 1971. La determinazione è stata eseguita secondo lo stesso metodo, usando però standard a concentrazione ridotta a 1 : 5 e prelevando 15 ml di ciascun campione.

Limite di rivelabilità: 2 ppb.

2.5.3. - *Arsenico.* — Circa 4 g di prodotto sono stati mineralizzati per riscaldamento con 25 ml di acido solforico e acqua ossigenata al 36%. La soluzione risultante, diluita a 50 ml, è stata analizzata secondo il metodo già in uso per l'analisi delle acque [7].

Limite di rivelabilità: 40 ppb.

## 3. - *Sperimentazione su vacche da latte*

### 3.1. - *Aspetti zootecnici.*

La prova è stata condotta su quattro gruppi, costituiti ciascuno da 8 vacche di razza Frisona, alimentati con una razione/capo giorno di 12 kg di fieno di erba medica e con una quantità di concentrati tali da coprire interamente i fabbisogni per le produzioni.

L'esperimento è iniziato ad una distanza media dal parto di circa 80 giorni e si è concluso dopo 7 mesi.

Nel corso della prova sono stati eseguiti i seguenti controlli individuali:

a) produzione di latte e contenuto protidico e lipidico (quindicinalmente):

- b) conta degli eritrociti e dei leucociti e contenuto di emoglobina nel sangue (mensilmente);
- c) peso vivo (ogni due mesi);
- d) composizione in acidi grassi dei lipidi del latte (mensilmente).

### 3.2. - *Lipidi totali e fosfolipidi.*

3.2.1. - *Estrazione dei lipidi totali.* — Campioni di latte prelevati lo stesso giorno del ricevimento od al massimo il giorno successivo sono stati addizionati di cloroformio-metanolo (2:1 v/v) fino ad un volume finale pari a 20 volte il volume iniziale (ad es. 10 ml + 190 ml). Il solvente è stato aggiunto poco per volta, agitando vigorosamente a mano dopo ogni aggiunta. Lasciando il latte a contatto con la miscela di estrazione per circa 24 h agitando saltuariamente, la parte proteica del latte si deposita lentamente sul fondo del recipiente di estrazione. La fase cloroformio-metanolo (SLT) è stata, quindi, trattata come in 2.2.1.

3.2.2. - *Analisi gravimetrica dei lipidi totali.* — Si è proceduto come in 2.2.2.

3.2.3. - *Separazione cromatografica dei fosfolipidi dai lipidi totali.* — Si è proceduto come in 2.2.3.

### 3.3. - *Acidi grassi.*

Il grasso è stato separato dal latte mediante centrifugazione. Circa 0,5 g di grasso, dopo fusione, sono stati trasferiti in fiala di vetro e addizionati di alcune gocce di soluzione al 1% di metilato sodico in metanolo. La fiala è stata saldata, agitata e posta in stufa a 80 °C per alcune ore, agitando ogni tanto. Dopo raffreddamento la fase contenente acidi grassi metilati è stata analizzata direttamente per gascromatografia nelle seguenti condizioni:

#### a) Gas-cromatografia su colonna impaccata.

Colonna in acciaio, lungh. m 3,60, diam. int. mm 2,5.

Fase stazionaria: 20 % Dietilenglicol succinato su Chrom. W, A.W. 80-100 mesh.

Temperatura: Colonna, programmata da 80 °C a 200 °C 80°/min. Iniettore 270 °C. Rivelatore 250 °C.

Rivelatore: FID, differenziale a doppia colonna.

Gas di trasporto: N<sub>2</sub>, 25 cm<sup>3</sup>/min.

#### b) Gascromatografia su colonna capillare.

Colonna in acciaio, lungh. m 90, diam. int. mm 0,25.

Fase stazionaria: Apiezon L.

Temperatura: Colonna. isoterma 165 °C. Iniettore 250 °C. Rivelatore 200 °C.

Rivelatore: FID.

Gas di trasporto: He, 0,8 cm<sup>3</sup>/min. *Splitter* di ripartizione 1/50.

#### 4. - *Sperimentazione su ratti*

##### 4.1. - *Accrescimento, comportamento clinico e riproduzione.*

Tutti gli esperimenti sono stati effettuati su gruppi di 8 ratti Sprague-Dawley di ambo i sessi, del peso di 250 g. Gli animali sono stati alimentati con una dieta sintetica della seguente composizione: caseina 21 %, amido 58 %, saccarosio 10 %, olio di fegato di merluzzo 1 %, miscela vitaminica 1 %, miscela salina 4 %, grasso di Toprina (o margarina) 5 %. Il grasso di Toprina veniva estratto dalla Toprina con cloroformio-metanolo (2:1 v/v) in accordo a Folch e Coll. [4].

4.1.1. - *Digeribilità dei lipidi della Toprina.* — Per la determinazione del coefficiente di digeribilità dei lipidi della Toprina, gli animali sono stati posti singolarmente in gabbie metaboliche ed alimentati con la dieta in esame dopo un periodo di adattamento di circa 7 giorni a dieta normale. Durante il periodo sperimentale, 7 giorni circa, è stato misurato esattamente il consumo di alimento e venivano raccolte quotidianamente le feci escrete. Le feci di ogni animale, relative a tutto il periodo sperimentale, sono state riunite e liofilizzate. Di ogni campione veniva determinata la quantità di lipidi secondo il metodo di Folch e Coll [4]. Il coefficiente di digeribilità è stato calcolato col metodo di Horustra [8] con la formula:

$$DC = \frac{Fc - Fe}{Fc} \times 100 \text{ in cui}$$

DC = coefficiente di digeribilità;

Fc = grasso consumato;

Fe = grasso escreto, corretto per il grasso metabolico.

4.1.2. - *Riproduzione.* — Per la metà delle ratte in esame la somministrazione del grasso di Toprina è stata iniziata al momento dell'accoppiamento, mentre l'altra metà fu preventivamente alimentata per un mese con la dieta contenente grasso di Toprina e quindi accoppiata. Le ratte rimaste gravide continuavano ad essere alimentate con la stessa dieta. I consumi di alimento ed il peso delle ratte sono stati controllati giornalmente per tutto il periodo della gravidanza. Al momento del parto è stata controllata la numerosità ed il peso della nidiata. Quindi, una parte dei neonati è stata sacrificata,

mentre 6 venivano lasciati alla madre fino allo svezzamento (cioè per 21 giorni). Di questi, metà sono stati sacrificati ed i rimanenti sono stati alimentati con le diete sperimentate sopra indicate. Dai ratti neonati sacrificati sono stati prelevati il cervello e l'intera carcassa, mentre dai ratti sacrificati allo svezzamento sono stati prelevati oltre al cervello, anche il cuore, il fegato, i reni e la residua carcassa. Tutti questi tessuti sono stati sottoposti alla estrazione dei lipidi con il metodo di Folch e Coll. [4]. Per i neonati in cui le quantità di tessuto disponibili erano molto piccole, l'estrazione dei lipidi è stata eseguita sull'insieme dei tessuti ottenuti da tutti i membri della nidiata.

La composizione degli acidi grassi dei lipidi totali è stata determinata seguendo la procedura descritta per i tessuti dei suini in 1.3.

#### 4.2. - Preparazioni mitocondriali e microsomiali.

Da ratti alimentati con la dieta contenente grasso di Toprina e con quella di controllo per 20 giorni, dopo sacrificio per decapitazione, sono stati prelevati il cuore ed il fegato. Da questi organi la preparazione dei mitocondri è stata fatta in accordo al metodo di Lardy e Wellman [9] e quella dei microsomi secondo Siekevitz e Palade [10].

Dalle preparazioni microsomiali e mitocondriali così ottenute sono stati estratti i lipidi e ne è stata determinata la composizione in acidi grassi, come già precedentemente descritto per i tessuti interi.

#### 5. - Analisi statistica

I dati relativi agli acidi grassi del tessuto epatico, cardiaco, muscolare ed adiposo dei suini ed ai lipidi totali, fosfolipidi ed acidi grassi del latte di vacca sono stati sottoposti all'analisi della varianza «one-way» [11]. Come è noto, questa tecnica presuppone che i campioni provengano da popolazioni gaussiane aventi la stessa varianza. Allo scopo di accertare la validità di questo tipo di analisi, su ogni campione utilizzato è stato effettuato un controllo di normalità mediante il test di Shapiro e Wilks [12], uno dei test più efficaci per piccoli campioni, ed un controllo di omoschedasticità delle varianze dei campioni con il test di Bartlett [13]. Nei casi in cui i tests di controllo rilevavano la mancanza dei requisiti suddetti, si è fatto uso di una tecnica non-parametrica, l'analisi della varianza monovalente per ranghi di Kruskal e Wallis [14], che, come tutte le tecniche non-parametriche, prescinde dalle caratteristiche delle popolazioni da cui provengono i campioni osservati. I programmi utilizzati sono conformi a quelli già descritti da Taggi [15].

## RISULTATI

1. - *Sperimentazione su suini*1.1. - *Aspetti zootecnici.*

La sperimentazione sui suini è stata condotta su 4 gruppi, ciascuno formato da 8 femmine ed 8 maschi castrati. Tre gruppi sono stati alimentati con diete semi-sintetiche contrassegnate con i simboli A (senza Toprina), B (15% Toprina), C (30% Toprina) ed una dieta di tipo tradizionale contenente il 15% di Toprina (D) (Tab. 1). Per ragioni di brevità, nel prosieguo

TABELLA I

## Formulazione delle diete per suini

COMPONENTE	%			
	A	B	C	D
Farina di mais . . . . .	—	—	—	60
Farina di orzo . . . . .	—	—	—	12
Crusca . . . . .	—	—	—	10
Amido . . . . .	36	43	50	—
Destrosio . . . . .	10	10	10	—
Segatura . . . . .	7	7	7	—
Olio di soja . . . . .	4	2	—	—
Farina di soja (50 % di proteine) . . . . .	2	2	—	—
Toprina . . . . .	—	15	30	15
Integratore minerale e vitaminico . . . . .	3	3	3	3

L'integrazione con metionina non è stata effettuata, poiché la formulazione delle diete garantisce i fabbisogni minimi necessari.

della relazione, i suini alimentati con queste quattro diete saranno contrassegnati come *suini A*, *suini B*, *suini C* e *suini D* rispettivamente. I risultati ottenuti relativamente ai pesi, agli accrescimenti ed agli indici di conversione dei suini trattati e di quelli di controllo sono riportati in Tab. 2. Non si sono osservate differenze significative fra gli accrescimenti degli animali trattati e di quelli di controllo e tra gli indici di conversione.

I rilievi effettuati sulle carcasse alla macellazione hanno mostrato che le carni dei soggetti del gruppo A sono nettamente più pallide. Nessuna differenza è stata viceversa notata nella consistenza e nel colore del grasso.

Nella Tab. 3 sono riportati alcuni rilievi effettuati sulle mezzene relativi ai tagli carnosì ed adiposi. I tre gruppi alimentati con Toprina sono risultati più magri del gruppo A con differenze significative per quanto riguarda i tagli carnosì ed il rapporto carne/grasso.

TABELLA 2

**Pesi, accrescimenti ed indici di conversione di suini alimentati con diverse quantità di Toprina**

PARAMETRO	GRUPPO			
	A (a)	B (b)	C (c)	D (d)
Peso vivo iniziale (kg) . . . . .	26,5	27,4	26,2	26,9
Peso vivo finale (kg) . . . . .	96,4	95,4	94,0	96,1
Durata del trattamento (giorni) . . . . .	102,0	100,0	101,0	101,0
Incremento ponderale medio <i>pro-die</i> (g) . . . . .	685,3	680,0	671,2	685,1
Indice di conversione (kg mangime/kg peso corporeo) . . . . .	2,7	2,6	2,6	2,6

Ogni risultato è media di 16 determinazioni relative ad un egual numero di suini.

(a) Senza Toprina.

(b) 15 % Toprina.

(c) 30 % Toprina.

TABELLA 3

**Percentuale di tagli carnosì ed adiposi nelle mezzene di suini alimentati con diverse quantità di Toprina**

	GRUPPO			
	A (a)	B (b)	C (c)	D (d)
Tagli carnosì % . . . . .	64,8	66,8	66,1	66,0
Tagli adiposi % . . . . .	27,2	24,7	25,6	24,9
Rapporto carne/grasso . . . . .	2,4	2,7	2,6	2,7
Spessore medio lardo carne . . . . .	2,0	2,7	2,8	2,6

Ogni risultato è media di 16 determinazioni relative ad un egual numero di suini.

(a) Senza Toprina.

(b) 15 % Toprina.

(c) 30 % Toprina.

**1.2. - Analisi del sangue.**

Da un esame statistico sui dati ottenuti da tre prelievi di sangue effettuati all'inizio, a metà ed alla fine del trattamento, non si manifesta alcuna significativa differenza tra i quattro gruppi per i globuli bianchi e per il con-

tenuto percentuale di emoglobina, mentre i globuli rossi dei suini del gruppo D sono significativamente più numerosi di quelli degli altri gruppi (Tab. 4).

TABELLA 4

**Globuli bianchi, globuli rossi e contenuto percentuale di emoglobina di campioni di sangue prelevati a tempi diversi da suini alimentati con diverse percentuali di Toprina**

GRUPPO	Prelievo	G. B./mm <sup>3</sup>	G. R./mm <sup>3</sup>	Hb g/100ml
A (a)	1	23.490	5.773.000	8,70
	2	10.926	5.961.000	11,13
	3	18.884	6.216.000	12,61
B (b)	1	24.712	5.866.000	9,02
	2	18.793	5.903.000	11,39
	3	19.861	6.133.000	12,52
C (c)	1	23.811	6.634.000	9,13
	2	19.621	5.927.000	11,45
	3	20.278	5.998.000	12,43
D (b)	1	25.651	5.938.000	9,33
	2	20.328	6.151.000	11,60
	3	19.372	6.496.000	12,79

I prelievi sono stati effettuati da tutti i suini di ogni gruppo all'inizio, a metà ed alla fine del trattamento.

(a) Senza Toprina.

(b) 15 % Toprina.

(c) 30 % Toprina.

Mettendo a confronto tra di loro i singoli prelievamenti, si osserva che per globuli rossi e contenuto percentuale di emoglobina si ha un aumento significativo tra un prelievo e l'altro, per quanto invece concerne i globuli bianchi si ha una diminuzione statisticamente significativa tra il primo prelievo e gli altri due (Tab. 4). Quest'ultimo fatto si spiega in quanto i maialetti all'inizio della prova denotavano sintomi influenzali con tosse, confermati alla macellazione da piccole lesioni polmonari già rimarginate e di vecchia data. Approfondendo l'esame sui dati del sangue all'interno dei singoli gruppi, si rileva una conferma all'andamento generale ad eccezione di due soli casi: nel gruppo B non si hanno differenze significative per quanto riguarda i globuli rossi, nel gruppo C invece per i globuli bianchi, anche se l'andamento resta lo stesso (Tab. 4).

### 1.3. — *Esame anatomo-patologico ed istologico.*

L'esame ispettivo ed anatomo-patologico non ha messo in evidenza alcuna differenza rilevante tra le carcasse ed i visceri degli animali di controllo e quelli dei tre gruppi in esperimento. Le carni dei suini di controllo (A) sono risultate più pallide e con maggiori percentuali di tagli adiposi.

Come quadro generale, si può osservare che, indipendentemente dalla presenza di Toprina nella dieta, gli organi che hanno presentato lesioni macroscopicamente apprezzabili in cavità addominale sono stati il fegato, i linfonodi meseraici ed i reni. La percentuale dei fegati colpiti da lesioni nodulari, bianco-grigiastre che si diffondono a raggiera sia a livello della glissoniana che in pieno parenchima è stata del 40-50 %. La diagnosi anatomo-patologica è stata di noduli parassitari dovuti per lo più alla avvenuta migrazione delle larve di ascaridi, diagnosi che è stata confermata dalla presenza nel lume intestinale di alcuni esemplari di parassiti adulti (*Ascaris suilla*). Inoltre, gli organi maggiormente colpiti in cavità toracica sono stati i polmoni per focolai bronco-polmonari dovuti a broncopolmonite enzootica dei suini. Tali lesioni si sono riscontrate nel 60% circa degli individui componenti i quattro gruppi di animali in esperimento.

Per quanto riguarda i quadri istologici, si è osservato quanto segue:

*Stomaco:* a carico dei gruppi di suini B e D si è manifestata in questo organo una leggera iperplasia dei follicoli linfatici della mucosa. Nel gruppo C l'ingrossamento dei follicoli linfatici è stato ancora più appariscente. Oltre a ciò è risultato considerevole anche l'aumento numerico dei granulociti eosinofili sia nella mucosa che nella sottomucosa.

*Duodeno:* nei gruppi B, C e D il quadro istologico predominante è stato la rilevante presenza di elementi mobili della serie granulocitaria (eosinofili) sia a livello della mucosa, dei villi, della sottomucosa che in zona perifollicolare. La iperplasia follicolare è considerevole nei gruppi B, C e D, quasi nulla nel gruppo A di controllo.

*Cieco:* nel tratto cecale si ripete, più o meno marcato, il solito quadro dell'ingrossamento dei follicoli linfatici con la presenza nello strato della sottomucosa dei polimorfonucleati eosinofili.

*Linfonodi meseraici:* l'iperplasia dell'organo negli animali dei gruppi B e D è ragguardevole, ma ancora più marcata, nel gruppo C.

*Fegato:* in tutti e quattro i gruppi di suini si sono osservati dei piccoli focolai di elementi linfocitari e granulocitari, localizzati nel connettivo perilobulare. Si è rilevato anche un leggero risentimento epatocellulare visibile per delle piene e per delle vacuolizzazioni citoplasmatiche.

*Ren:* a livello renale l'unica alterazione microscopicamente visibile, in percentuale assai bassa per tutti i gruppi, è stata la presenza di piccoli focolai infiammatori che interessano per lo più l'epitelio peritubulare e intertubulare. Piccole emorragie sottocapsulari sono anche frequenti nei reni degli animali di tutti i gruppi.

*Cuore:* sono presenti piccole emorragie intramurali nel tessuto miocardico di tutti i gruppi di animali, localizzate specialmente sotto la sierosa endocardica, dovuta sicuramente al tipo di abbattimento che è stato impiegato sugli animali (elettroshock).

Il quadro anatomo-patologico ed istologico riscontrato negli organi dei suini alimentati con Toprina suggerisce la seguente diagnosi: la considerevole granulocitosi eosinofila presente nei visceri dell'apparato digerente, accompagnata da quella a livello epatico e dei linfonodi meseraici, fa propendere verso una diagnosi di parassitosi. A questa potrebbe essersi sovrapposta e sommata una risposta di tipo allergico-iperergico dell'apparato digerente, dovuta all'alimentazione degli animali con sostanza eterogenea, somministrata in quantità superiore a quanto l'animale può sopportare.

#### 1.4. - *Prosciutti ed insaccati.*

Da ciascuno dei gruppi di suini in esperimento (gruppi A, B e C) si sono prelevati 30 kg di tessuto muscolare avendo cura che nel campione finale figurassero porzioni prelevate da ciascun suino del gruppo. A tali quantitativi di tessuto muscolare si è aggiunto un opportuno quantitativo di lardo del gruppo di suini corrispondente e si è proceduto alla preparazione di salami di media taglia (circa 1 kg cadauno) secondo la normale tecnica industriale. I salami così preparati sono stati quindi fatti stagionare nelle normali sale di stagionatura e sottoposti ad analisi ispettiva e batteriologica periodica nel corso della stagionatura stessa. I prosciutti sono stati preparati mediante salagione normale esterna e stagionati seguendo la normale tecnica industriale.

Nella fase di stagionatura non si sono osservate differenze tra i prodotti ottenuti dai diversi gruppi.

I risultati ottenuti dall'esame batteriologico degli insaccati sono mostrati in Fig. 1 e possono così essere riassunti:

a) enterobatteri: si nota una netta diminuzione del numero di questi microrganismi fin dal primo prelievo e la loro completa scomparsa nel prelievo successivo. Il comportamento è analogo in tutti i tre i gruppi di salami.

b) carica microbica: nei gruppi B e C si nota un rapido aumento della flora microbica totale fin dal primo prelievo dopo di che i valori si stabiliz-

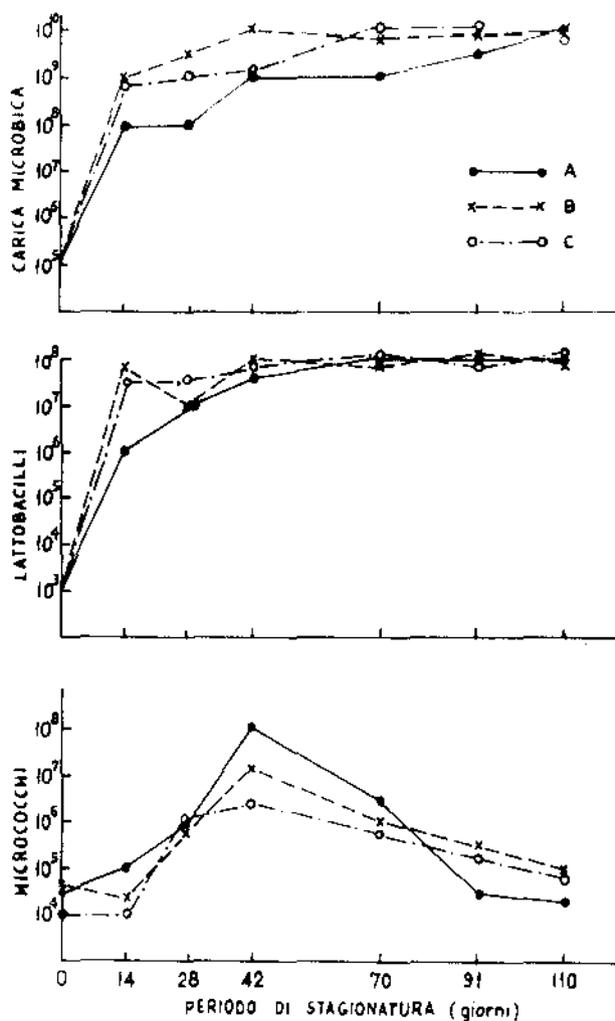


Fig. 1. — Esame batteriologico degli insaccati preparati con carne e lardo di suini alimentati con diverse quantità di Toprina

zano sui valori massimi, intorno a  $10^{10}$ , nei campioni analizzati dopo 70 giorni di stagionatura.

Nel gruppo di controllo si nota un leggero ritardo nel raggiungere i valori massimi, infatti tali valori si raggiungono solamente all'atto dell'ultimo prelievo (giorni 100 di stagionatura).

c) lattobacilli: il comportamento di questo gruppo microbico è analogo a quello osservato in b). I valori massimi vengono raggiunti intorno al

quarantesimo giorno di stagionatura e rimangono costanti fino al termine della prova.

d) micrococchi: si osserva un progressivo aumento nel tempo di questo gruppo microbico, anche se più lento del gruppo precedente. I massimi valori vengono ottenuti fra il quarantesimo e settantesimo giorno di stagionatura, dopo di che si nota una riduzione numerica che rimane costante fino al termine della prova. I valori massimi dei gruppi B e C sono inferiori a quelli del gruppo di controllo.

L'esame ispettivo lungo tutto l'arco della stagionatura, e quello del prodotto finito, non ha evidenziato alcuna differenza dei caratteri organolettici fra i salami ed i prosciutti allestiti con i suini del gruppo controllo e quelli con suini alimentati con Toprina, eccetto per una più intensa colorazione rossa della frazione carnea.

## 2. - Composizione chimica dei tessuti dei suini alimentati con Toprina

### 2.1. - Idrocarburi.

Come risulta dalla Tab. 5, il tessuto adiposo e quello cardiaco dei suini trattati con Toprina (B e C) contengono quantità rilevanti di n-paraffine assenti nei tessuti degli animali di controllo (A). La quantità di n-paraffine presenti in questi due tessuti non aumenta con la quantità di Toprina nella

TABELLA 5

### Idrocarburi paraffinici <sup>(a)</sup> di tessuti di suini alimentati con diverse quantità di Toprina

TESSUTO	p. p. m.					
	A (b)		B (c)		C (d)	
	C <sub>11</sub> -C <sub>18</sub>	C <sub>23</sub> -C <sub>28</sub>	C <sub>11</sub> -C <sub>18</sub>	C <sub>23</sub> -C <sub>28</sub>	C <sub>14</sub> -C <sub>18</sub>	C <sub>23</sub> -C <sub>28</sub>
Adiposo . . . . .	—	—	53,0	14,0	56,0	15,0
Cardiaco . . . . .	—	—	1,3	0,4	1,6	0,4
Cerebrale . . . . .	—	—	—	—	—	—
Epatico . . . . .	—	—	—	—	—	—

(a) La determinazione degli idrocarburi da C<sub>12</sub> a C<sub>21</sub> e da C<sub>24</sub> in su non è stata effettuata a causa di interferenze dovute ad altri composti presenti anche negli organi degli animali di controllo.

(b) Senza Toprina.

(c) 15 % Toprina.

(d) 30 % Toprina.

dieta. La composizione delle n-paraffine rinvenute nel tessuto adiposo e cardiaco è risultata praticamente identica a quella delle n-paraffine della Toprina. Inoltre la presenza della Toprina nella dieta alle concentrazioni in esame non induce accumulo di n-paraffine nel tessuto epatico ed in quello cerebrale (Tab. 5).

### 2.2. - Lipidi totali e fosfolipidi.

I contenuti dei lipidi totali estratti dal tessuto epatico, cardiaco, muscolare, cerebrale ed adiposo dei suini A, B, C con cloroformio-metanolo (2 : 1 v/v) sono riportati in Tab. 6. I risultati ottenuti non hanno mostrato alcuna differenza significativa fra i contenuti lipidici dei tessuti analizzati provenienti dagli animali di controllo e da quelli trattati. Nessuna differenza significativa è stata, inoltre, osservata nel contenuto lipidico dei tessuti dei suini maschi e femmine. Con l'eccezione del tessuto adiposo che contiene un bassissimo tenore di fosfolipidi, i lipidi estratti dai tessuti dei suini sono stati frazionati in lipidi neutri e fosfolipidi e dosati separatamente. Queste determinazioni hanno dimostrato (Tab. 7) che la distribuzione dei lipidi totali in lipidi neutri e fosfolipidi non è influenzata dalla presenza della Toprina nella dieta.

### 2.3. - Acidi grassi totali.

La composizione percentuale degli acidi grassi totali del tessuto epatico, cardiaco, muscolare ed adiposo dei suini A, B, C è riportata nelle Tab. 8-11 e nelle Figg. 2-5, in cui, con le colonne in nero sono indicati i valori di B e C risultati statisticamente diversi dai corrispondenti valori di A.

TABELLA 6

### Lipidi totali di tessuti di suini alimentati con diverse percentuali di Toprina

T E S S U T O	LIPIDI TOTALI (g/100 g di tessuto)		
	A (a)	B (b)	C (c)
Epatico . . . . .	4,8	4,7	4,6
Cardiaco . . . . .	3,1	3,1	3,1
Muscolare . . . . .	2,6	2,0	2,0
Cerebrale . . . . .	10,0	10,2	9,9
Adiposo . . . . .	90,4	89,5	89,5

Ogni risultato è media di 10 determinazioni relative ad un egual numero di suini.

(a) Senza Toprina.

(b) 15 % Toprina.

(c) 30 % Toprina.

quarantesimo giorno di stagionatura e rimangono costanti fino al termine della prova.

d) micrococchi: si osserva un progressivo aumento nel tempo di questo gruppo microbico, anche se più lento del gruppo precedente. I massimi valori vengono ottenuti fra il quarantesimo e settantesimo giorno di stagionatura, dopo di che si nota una riduzione numerica che rimane costante fino al termine della prova. I valori massimi dei gruppi B e C sono inferiori a quelli del gruppo di controllo.

L'esame ispettivo lungo tutto l'arco della stagionatura, e quello del prodotto finito, non ha evidenziato alcuna differenza dei caratteri organolettici fra i salami ed i prosciutti allestiti con i suini del gruppo controllo e quelli con suini alimentati con Toprina, eccetto per una più intensa colorazione rossa della frazione carnea.

## 2. - Composizione chimica dei tessuti dei suini alimentati con Toprina

### 2.1. - Idrocarburi.

Come risulta dalla Tab. 5, il tessuto adiposo e quello cardiaco dei suini trattati con Toprina (B e C) contengono quantità rilevanti di n-paraffine assenti nei tessuti degli animali di controllo (A). La quantità di n-paraffine presenti in questi due tessuti non aumenta con la quantità di Toprina nella

TABELLA 5

### Idrocarburi paraffinici <sup>(a)</sup> di tessuti di suini alimentati con diverse quantità di Toprina

TESSUTO	p. p. m.					
	A (b)		B (c)		C (d)	
	C <sub>14</sub> -C <sub>18</sub>	C <sub>20</sub> -C <sub>24</sub>	C <sub>14</sub> -C <sub>18</sub>	C <sub>20</sub> -C <sub>24</sub>	C <sub>14</sub> -C <sub>18</sub>	C <sub>20</sub> -C <sub>24</sub>
Adiposo . . . . .	—	—	53,0	14,0	56,0	15,0
Cardiaco . . . . .	—	—	1,3	0,4	1,6	0,4
Cerebrale . . . . .	—	—	—	—	—	—
Epatico . . . . .	—	—	—	—	—	—

(a) La determinazione degli idrocarburi da C<sub>10</sub> a C<sub>22</sub> e da C<sub>24</sub> in su non è stata effettuata a causa di interferenze dovute ad altri composti presenti anche negli organi degli animali di controllo.

(b) Senza Toprina.

(c) 15 % Toprina.

(d) 30 % Toprina.

dieta. La composizione delle n-paraffine rinvenute nel tessuto adiposo e cardiaco è risultata praticamente identica a quella delle n-paraffine della Toprina. Inoltre la presenza della Toprina nella dieta alle concentrazioni in esame non induce accumulo di n-paraffine nel tessuto epatico ed in quello cerebrale (Tab. 5).

### 2.2. - Lipidi totali e fosfolipidi.

I contenuti dei lipidi totali estratti dal tessuto epatico, cardiaco, muscolare, cerebrale ed adiposo dei suini A, B, C con cloroformio-metanolo (2 : 1 v/v) sono riportati in Tab. 6. I risultati ottenuti non hanno mostrato alcuna differenza significativa fra i contenuti lipidici dei tessuti analizzati provenienti dagli animali di controllo e da quelli trattati. Nessuna differenza significativa è stata, inoltre, osservata nel contenuto lipidico dei tessuti dei suini maschi e femmine. Con l'eccezione del tessuto adiposo che contiene un bassissimo tenore di fosfolipidi, i lipidi estratti dai tessuti dei suini sono stati frazionati in lipidi neutri e fosfolipidi e dosati separatamente. Queste determinazioni hanno dimostrato (Tab. 7) che la distribuzione dei lipidi totali in lipidi neutri e fosfolipidi non è influenzata dalla presenza della Toprina nella dieta.

### 2.3. - Acidi grassi totali.

La composizione percentuale degli acidi grassi totali del tessuto epatico, cardiaco, muscolare ed adiposo dei suini A, B, C è riportata nelle Tab. 8-11 e nelle Figg. 2-5, in cui, con le colonne in nero sono indicati i valori di B e C risultati statisticamente diversi dai corrispondenti valori di A.

TABELLA 6

### Lipidi totali di tessuti di suini alimentati con diverse percentuali di Toprina

T E S S U T O	LIPIDI TOTALI (g/100 g di tessuto)		
	A (a)	B (b)	C (c)
Epatico . . . . .	4,8	4,7	4,6
Cardiaco . . . . .	3,1	3,1	3,1
Muscolare . . . . .	2,6	2,0	2,0
Cerebrale . . . . .	10,0	10,2	9,9
Adiposo . . . . .	90,4	89,5	89,5

Ogni risultato è media di 10 determinazioni relative ad un egual numero di suini.

(a) Senza Toprina.

(b) 15 % Toprina.

(c) 30 % Toprina.

TABELLA 7

**Fosfolipidi di tessuti di suini alimentati con diverse percentuali di Toprina**

T E S S U T O	FOSFOLIPIDI (% dei lipidi totali)		
	A (a)	B (b)	C (c)
Epatico . . . . .	63	60	60
Cardiaco . . . . .	61	63	62
Muscolare . . . . .	30	35	32
Cerebrale . . . . .	49	48	45

Ogni risultato è media di 2 determinazioni relative ad un egual numero di suini.

(a) Senza Toprina.

(b) 15 % Toprina.

(c) 30 % Toprina.

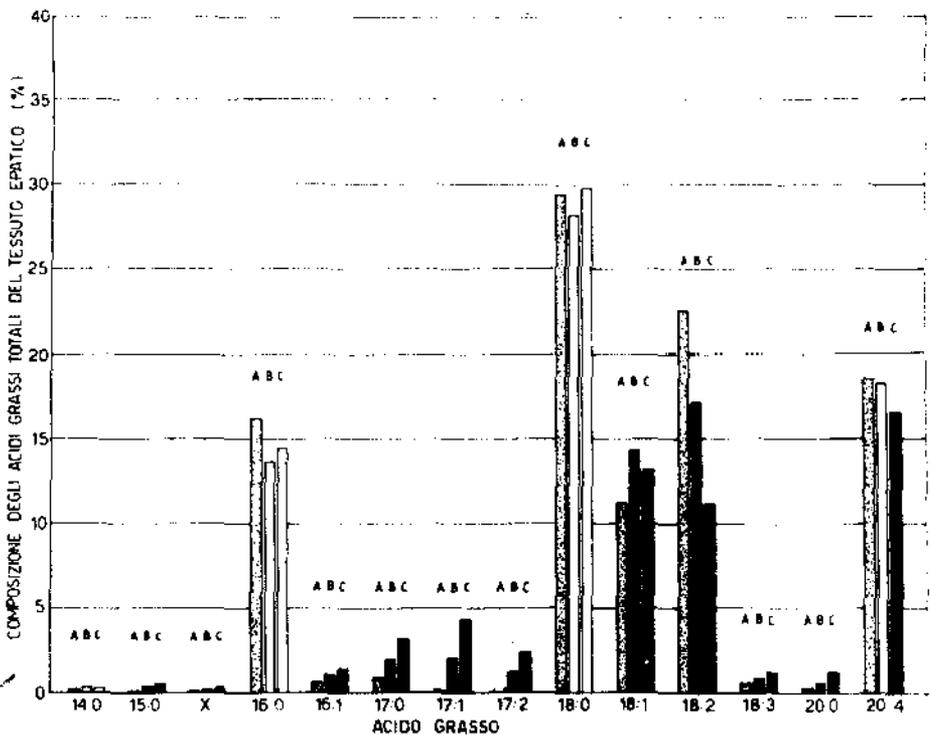


Fig. 2. — Composizione degli acidi grassi totali del tessuto epatico di suini alimentati con diverse quantità di Toprina.

A = senza Toprina; B = 15 % Toprina; C = 30 % Toprina.

□ = differenza rispetto ad A non significativa.

■ = differenza rispetto ad A statisticamente significativa.

**Composizione degli acidi grassi totali del tessuto epatico di suini  
alimentati con diverse quantità di Toprina**

ACIDO GRASSO		%		
		A (a)	B (b)	C (c)
C <sub>14</sub>	acido miristico . . . . .	0,22	0,23 ± 0,03	0,22 ± 0,03
C <sub>15</sub>	acido pentadecanoico . . . . .	0,12 ± 0,04	0,44 ± 0,03	0,61 ± 0,03
C <sub>x</sub>	non identificato . . . . .	0,09 ± 0,09	0,12	0,22
C <sub>16</sub>	acido palmitico . . . . .	15,13 ± 1,92	13,72 ± 2,89	14,44 ± 1,73
C <sub>16</sub>	acido palmitoleico . . . . .	0,72 ± 0,10	1,05 ± 0,22	1,48
C <sub>17</sub>	acido eptadecanoico . . . . .	0,91	1,98 ± 0,44	3,19 ± 0,52
C <sub>17</sub> =	acido eptadecenoico . . . . .	0,17 ± 0,04	2,00	4,38 ± 0,69
C <sub>17</sub> = =	acido eptadecadienoico . . . . .	—	1,07 ± 0,21	2,36 ± 0,51
C <sub>18</sub>	acido stearico . . . . .	29,39 ± 1,59	28,25 ± 3,33	29,72 ± 2,95
C <sub>18</sub> =	acido oleico . . . . .	11,19	14,31 ± 0,89	13,18 ± 1,65
C <sub>18</sub> = =	acido linoleico . . . . .	22,53	17,08 ± 1,62	11,17 ± 0,57
C <sub>18</sub> = = =	acido linolenico . . . . .	0,55 ± 0,12	0,84 ± 0,49	0,27 ± 0,02
C <sub>20</sub>	acido arachico . . . . .	0,31 ± 0,35	0,58 ± 0,43	1,22 ± 0,64
C <sub>20</sub> = = = =	acido arachidonico . . . . .	18,65 ± 1,09	18,30 ± 2,75	16,53 ± 0,70
TOTALI acidi grassi dispari . . . . .		1,2	5,49	10,5

Ogni risultato è media di 10 determinazioni relative ad un egual numero di suini. Oltre al valore medio viene anche riportata la deviazione standard che è stata omessa nei casi in cui la distribuzione dei valori sperimentali non era gaussiana.

- (a) Senza Toprina.  
(b) 15 % Toprina.  
(c) 30 % Toprina.

**Composizione degli acidi grassi totali di tessuto cardiaco di suini  
alimentati con diverse quantità di Toprina**

ACIDO GRASSO		%		
		A (a)	B (b)	C (c)
C <sub>14</sub>	acido miristico . . . . .	0,14 ± 0,13	0,26 ± 0,13	0,33 ± 0,16
C <sub>15</sub>	acido pentadecanoico . . . . .	0,04	0,35 ± 0,09	0,57 ± 0,27
C <sub>2</sub>	non identificato . . . . .	1,60	4,74 + 1,87	5,15 ± 1,92
C <sub>16</sub>	acido palmitico . . . . .	15,54 ± 0,88	13,71 ± 1,84	14,52 ± 1,34
C <sub>16:1</sub>	acido palmitoleico . . . . .	0,52 ± 0,31	1,71 ± 0,34	1,68 ± 0,73
C <sub>17</sub>	acido eptadecanoico . . . . .	0,18 ± 0,12	0,90	1,67
C <sub>17:1</sub>	acido eptadecenoico . . . . .	0,13	4,28 + 1,17	5,62 ± 1,39
C <sub>17:2</sub>	acido eptadecadienoico . . . . .	-	1,41	3,86 ± 0,72
C <sub>18</sub>	acido stearico . . . . .	14,66 ± 1,02	12,34 ± 1,22	14,71 ± 1,85
C <sub>18:1</sub>	acido oleico . . . . .	14,34 ± 3,04	14,69 ± 3,79	15,65 ± 2,99
C <sub>18:2</sub>	acido linoleico . . . . .	39,98 ± 3,38	30,48 ± 2,68	24,34 ± 1,53
C <sub>18:3</sub>	acido linolenico . . . . .	1,00 ± 0,39	0,56 ± 0,14	1,06
C <sub>20</sub>	acido arachico . . . . .	0,31 ± 0,33	1,03 ± 0,54	0,62
C <sub>20:4</sub>	acido arachidonico . . . . .	11,55 ± 1,77	13,34 ± 1,61	11,19 ± 1,60
TOTALI acidi grassi dispari . . . . .		0,35	6,97	11,72

Ogni risultato è media di 10 determinazioni relative ad un egual numero di suini. Oltre al valore medio viene anche riportata la deviazione standard che è stata omessa nei casi in cui la distribuzione dei valori sperimentali non era gaussiana.

(a) Senza Toprina.

(b) 15 % Toprina.

(c) 30 % Toprina.

TABELLA 10

**Composizione degli acidi grassi totali di tessuto muscolare di suini  
alimentati con diverse quantità di Toprina**

ACIDO GRASSO		%		
		A (a)	B (b)	C (c)
C <sub>14</sub>	acido miristico . . . . .	1,00 ± 0,19	1,01	0,95 ± 0,18
C <sub>15</sub>	acido pentadecanoico . . . . .	1,01	0,29 ± 0,08	0,46
C <sub>x</sub>	non identificato . . . . .	0,68	0,25	0,96 ± 0,80
C <sub>16</sub>	acido palmitico . . . . .	19,89	20,45 ± 1,06	20,72 ± 2,43
C <sub>16</sub> =	acido palmitoleico . . . . .	2,58 ± 0,52	3,04 ± 0,55	3,71 ± 0,57
C <sub>17</sub>	acido eptadecanoico . . . . .	0,27	0,71 ± 0,16	0,96 ± 0,17
C <sub>17</sub> =	acido eptadecenoico . . . . .	0,05	2,19	4,55 ± 1,07
C <sub>17</sub> = =	acido eptadecadienoico . . . . .	—	1,07	2,21 ± 0,31
C <sub>18</sub>	acido stearico . . . . .	13,17 ± 1,54	13,39 ± 0,97	14,04 ± 1,27
C <sub>18</sub> =	acido oleico . . . . .	32,45 ± 5,27	36,16 ± 2,55	35,42 ± 4,83
C <sub>18</sub> = =	acido linoleico . . . . .	24,24 ± 5,85	15,84 ± 2,21	10,46 ± 3,32
C <sub>18</sub> = = =	acido linolenico . . . . .	1,12 ± 0,12	0,70 ± 0,11	0,64 ± 0,45
C <sub>20</sub>	acido arachico . . . . .	0,59	0,69	0,59 ± 0,40
C <sub>20</sub> = = = =	acido arachidonico . . . . .	3,94 ± 1,24	4,19 ± 0,80	4,32 ± 1,73
TOTALI acidi grassi dispari . . . . .		0,33	4,26	8,18

Ogni risultato è media di 10 determinazioni relative ad un egual numero di suini. Oltre al valore medio viene anche riportata la deviazione standard che è stata omessa nei casi in cui la distribuzione dei valori sperimentali era gaussiana.

(a) Senza Toprina.

(b) 15 % Toprina.

(c) 30 % Toprina.

**Composizione degli acidi grassi totali di tessuto adiposo di suini  
alimentati con diverse quantità di Toprina**

ACIDO GRASSO		%		
		A (a)	B (b)	C (c)
C <sub>14</sub>	acido miristico . . . . .	1,22 ± 0,14	1,36 ± 0,22	1,31 ± 0,13
C <sub>15</sub>	acido pentadecanoico . . . . .	—	0,36 ± 0,06	0,45 ± 0,10
C <sub>x</sub>	non identificato . . . . .	—	—	—
C <sub>16</sub>	acido palmitico . . . . .	21,88 ± 1,85	21,37 ± 1,34	23,54 ± 1,99
C <sub>16</sub> =	acido palmitoleico . . . . .	2,25 ± 0,35	2,64 ± 0,47	3,24 ± 0,51
C <sub>17</sub>	acido eptadecanoico . . . . .	0,32 ± 0,11	1,03 ± 0,11	1,41 ± 0,25
C <sub>17</sub> =	acido eptadecenoico . . . . .	0,28 ± 0,09	3,56 ± 0,24	5,70 ± 0,91
C <sub>17</sub> = =	acido eptadecadienoico . . . . .	—	0,99 ± 0,24	1,78 ± 0,41
C <sub>18</sub>	acido stearico . . . . .	12,17 ± 1,34	14,56	15,74 ± 1,46
C <sub>18</sub> =	acido oleico . . . . .	37,32 ± 1,90	38,12 ± 1,55	39,07 ± 1,38
C <sub>18</sub> = =	acido linoleico . . . . .	21,88 ± 2,48	14,44 ± 1,22	6,39 ± 1,54
C <sub>18</sub> = = =	acido linolenico . . . . .	1,94 ± 0,70	0,99 ± 0,17	0,96 ± 0,62
C <sub>20</sub>	acido arachico . . . . .	0,71 ± 0,60	0,55 ± 0,16	0,41
C <sub>20</sub> = = = =	acido arachidonico . . . . .	—	—	—
TOTALI acidi grassi dispari . . . . .		0,60	5,94	9,34

Ogni risultato è media di 10 determinazioni relative ad un egual numero di suini. Oltre al valore medio viene anche riportata la deviazione standard che è stata omessa nei casi in cui la distribuzione dei valori sperimentali non era gaussiana.

(a) Senza Toprina.

(b) 15 % Toprina.

(c) 30 % Toprina.

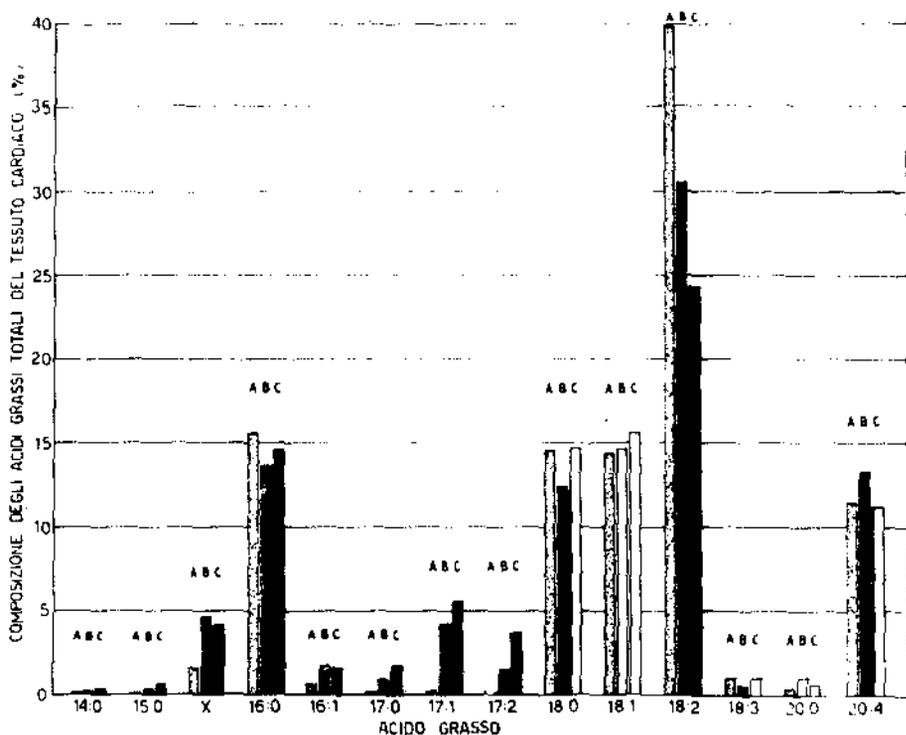


Fig. 3. — Composizione degli acidi grassi totali del tessuto cardiaco di suini alimentati con diverse quantità di Toprina.

A = senza Toprina; B = 15 % Toprina; C = 30 % Toprina.

■ = differenza rispetto ad A statisticamente significativa.

□ = differenza rispetto ad A non significativa.

I risultati ottenuti mostrano nei tessuti degli animali alimentati con Toprina (B e C) un rilevante e statisticamente significativo incremento del contenuto degli acidi grassi pentadecanoico ( $C_{15}$ ), palmitoleico ( $C_{16:1}$ ), eptadecanoico ( $C_{17}$ ), eptadecenoico ( $C_{17:1}$ ) ed eptadecadienoico ( $C_{17:2}$ ), mentre il contenuto dell'acido linoleico ( $C_{18:2}$ ) diminuisce. Questi andamenti si osservano in modo sostanzialmente identico per i 4 tessuti analizzati. È di notevole interesse confrontare queste variazioni con quelle delle composizioni degli acidi grassi delle diete A, B e C (Fig. 6) i cui contenuti totali di acidi grassi sono risultati pari al 3,25, 2,67 e 2,73 rispettivamente.

Da tale confronto risulta che gli acidi pentadecanoico ( $C_{15}$ ), palmitoleico ( $C_{16:1}$ ), eptadecanoico ( $C_{17}$ ), eptadecenoico ( $C_{17:1}$ ) ed eptadecadienoico ( $C_{17:2}$ ) sono assenti nella dieta somministrata agli animali di controllo, mentre sono presenti nella dieta B (15 % Toprina) ed in quantità quasi tripla in quella C (30 % Toprina). Questi acidi grassi, in prevalenza a

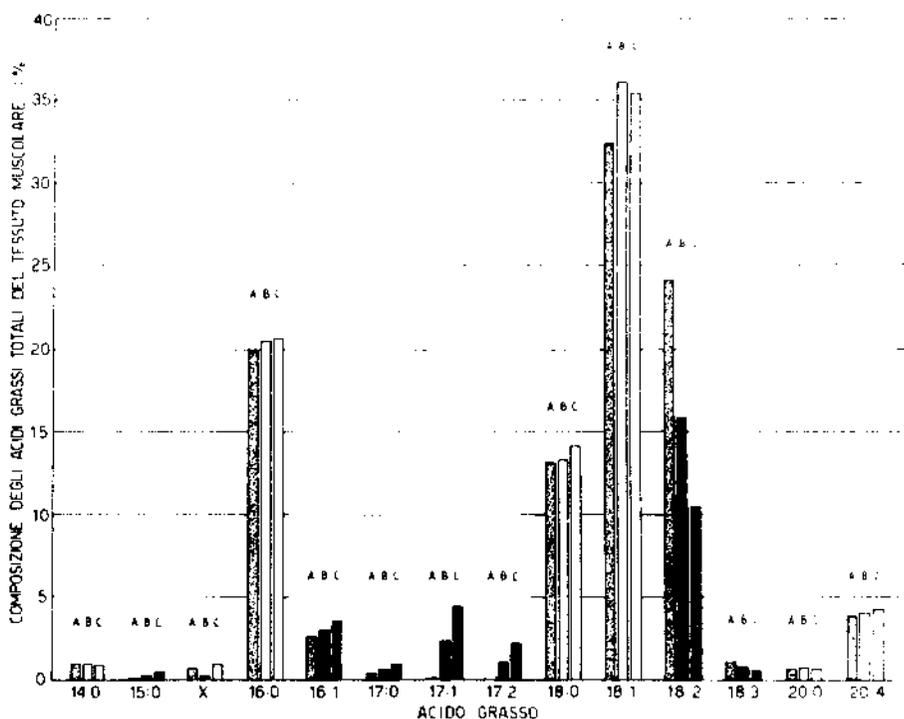


Fig. 4. — Composizione degli acidi grassi totali del tessuto muscolare di suini alimentati con diverse quantità di Toprina.

A = senza Toprina; B = 15 % Toprina; C = 30 % Toprina.

■ = differenza rispetto ad A statisticamente significativa

□ = differenza rispetto ad A non statisticamente significativa.

numero dispari di atomi di carbonio, sono dominanti nella Toprina e sono con questa introdotti nella dieta. Per quanto riguarda l'acido linoleico ( $C_{18}$ ) esso diminuisce con l'aumentare della Toprina nella dieta. Ciò potrebbe essere correlato al fatto che la Toprina contiene una quantità di questo acido inferiore a quella della dieta di controllo. Si può, quindi, concludere che vi è un'evidente correlazione fra le variazioni causate dalla Toprina nella composizione degli acidi grassi della dieta e nei tessuti degli animali con esse trattate. L'entità di queste variazioni, inoltre, aumenta, sia pure in modo non proporzionale, con la quantità di Toprina presente nella dieta (Tab. 12).

È da notare che non tutti gli acidi grassi, i cui contenuti nella dieta variano con l'aumento di Toprina, mostrano analoghe variazioni nei tessuti dei suini. Infatti, gli acidi miristico ( $C_{14}$ ), palmitico ( $C_{16}$ ), stearico ( $C_{18}$ ), oleico ( $C_{18}$ ), che pure sono presenti in quantità significativamente diverse nelle tre diete, sono presenti nei tessuti analizzati in quantità i non signifi-

**Variazione del contenuto di acidi grassi con numero dispari di atomi di carbonio e dell'acido linoleico fra i mangimi a diverso contenuto di Toprina e fra i tessuti dei suini con essi alimentati**

CAMPIONE	V A R I A Z I O N E			
	Acidi grassi a numero dispari di atomi di carbonio (C <sub>13</sub> + C <sub>17</sub> + C <sub>19</sub> + C <sub>21</sub> =)		Acido linoleico (C <sub>18</sub> =)	
	(B-A)	(C-B)	(B-A)	(C-B)
Mangime . . . . .	- 21,40	+ 36,60	- 12,00	- 22,80
Tessuto epatico . . . . .	+ 4,29	+ 5,01	- 5,45	- 5,91
Tessuto cardiaco . . . . .	+ 6,62	+ 4,75	- 8,14	- 9,50
Tessuto muscolare . . . . .	+ 3,93	+ 3,92	- 8,40	- 5,38
Tessuto adiposo . . . . .	+ 5,34	+ 3,40	- 7,44	- 8,05

A - Senza Toprina.

B - 15 % Toprina.

C - 30 % Toprina.

cattivamente diverse o soltanto leggermente diverse. Caso singolare è quello dell'acido linolenico (C<sub>18</sub>=) che è minore nei mangimi contenenti Toprina mentre nel tessuto epatico dei suini alimentati con Toprina è maggiore. Sia a causa della loro dispersione che del limitato numero di determinazioni (4 per ogni dieta), l'analisi delle composizioni in acidi grassi totali del tessuto cerebrale con il metodo delle analisi della varianza monovalente per ranghi di Kruskal e Wallis non mette in evidenza alcuna differenza significativa fra i suini alimentati con o senza Toprina, eccettuato il caso dell'acido epta-decenoico (C<sub>17</sub>) che aumenta del 37 e 154 % nei suini alimentati con le diete B e C, rispetto ai suini A.

Per quanto riguarda la composizione degli acidi grassi totali del lardo degli insaccati e dei prodotti preparati con carni di suini alimentati con le diete B e C, abbiamo osservato che essa non varia durante tutto il corso della stagionatura e rimane praticamente identica a quella determinata sul lardo al momento della macellazione del suino. Dosaggi relativi soltanto a due animali per ogni gruppo di suini indicano che gli acidi grassi a numero dispari di atomi di carbonio sono distribuiti in modo omogeneo fra lipidi neutri e fosfolipidi dei tessuti studiati.

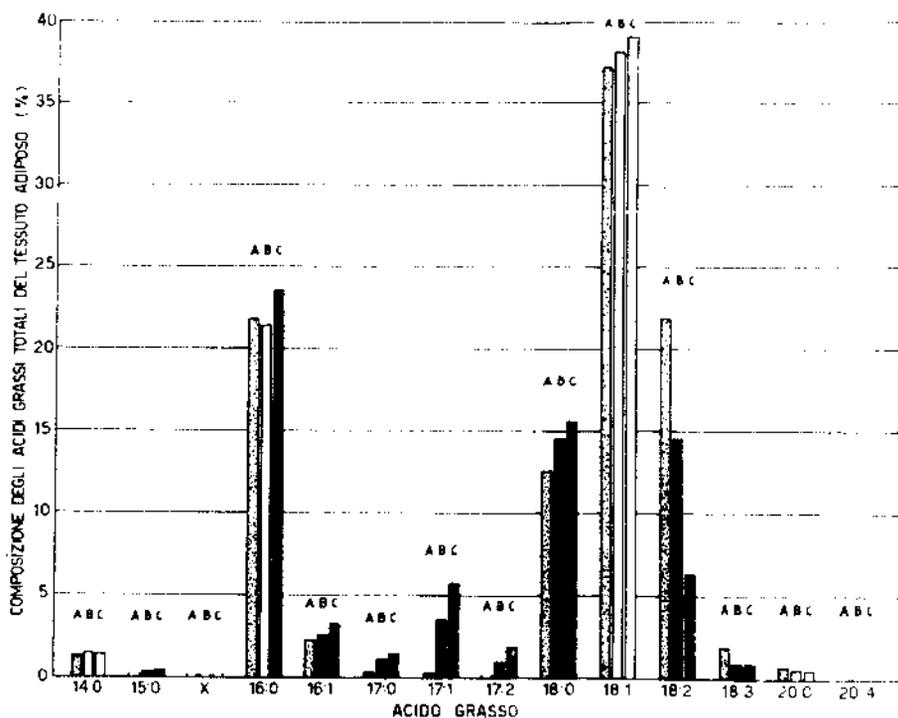


Fig. 5. — Composizione degli acidi grassi totali del tessuto adiposo di suini alimentati con diverse quantità di Toprina.

A = senza Toprina; B = 15 % Toprina; C = 30 % Toprina.

□ = differenza rispetto ad A non significativa.

■ = differenza rispetto ad A statisticamente significativa.

#### 2.4. — Amminoacidi ed antigeni.

Nessuna differenza è stata evidenziata fra le composizioni degli amminoacidi liberi estratti dal tessuto epatico di suini trattati e non trattati. Infine, sono stati analizzati numerosi estratti di fegato, pancreas ed intestino di suini trattati mediante immunodiffusione con il siero anti-Toprina ed in nessun caso fu possibile evidenziare la presenza di determinanti antigeni della Toprina negli estratti di questi tessuti.

#### 2.5. — Oligoelementi.

Come risulta dalle Tab. 13 e 14, i livelli di piombo, cadmio e mercurio del tessuto epatico e renale dei tessuti trattati con Toprina non differiscono in modo significativo da quelli dei tessuti dei suini di controllo.

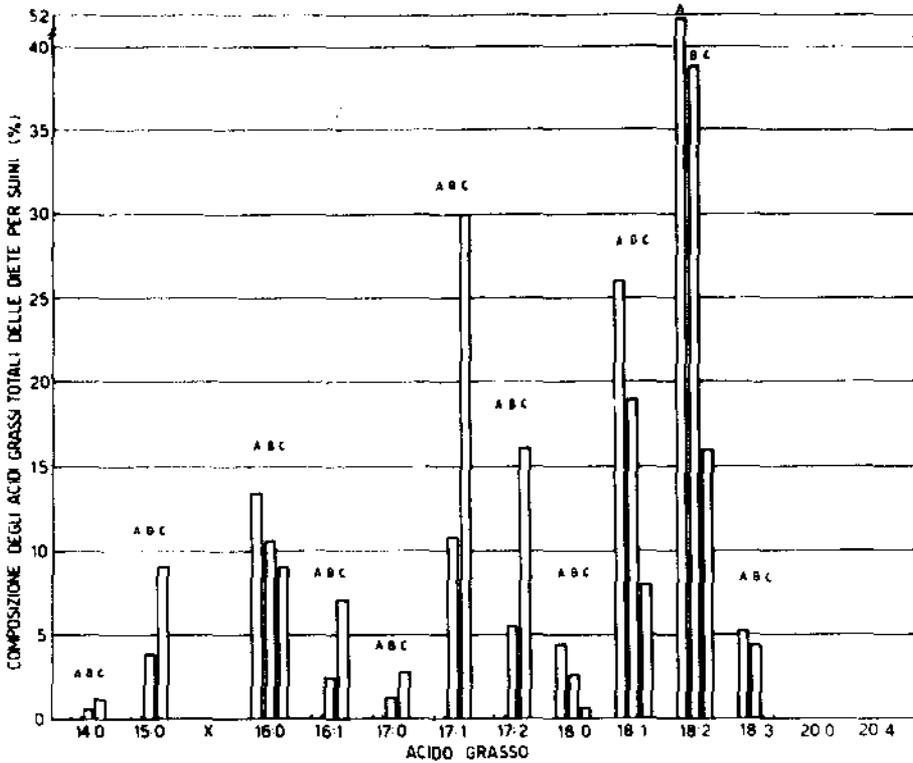


Fig. 6. — Composizione degli acidi grassi totali delle diete usate per l'alimentazione dei suini. A = senza Toprina; B = 15 % Toprina; C = 30 % Toprina.

TABELLA 13

**Oligoelementi di tessuto epatico di suini  
alimentati con diverse quantità di Toprina**

	p. p. m.			
	A (a)	B (b)	C (c)	D (d)
Piombo . . . . .	0,38	0,15	0,36	0,17
Cadmio . . . . .	0,06	0,09	0,03	0,05
Mercurio . . . . .	0,01	0,01	0,01	0,01

Ogni risultato dei gruppi A e C è media di 6 determinazioni, mentre ogni risultato dei gruppi B e D è media di 2 determinazioni relative ad un egual numero di suini.

- (a) Senza Toprina.
- (b) 15 % Toprina.
- (c) 30 % Toprina.

TABELLA 14

**Oligoelementi di tessuto renale di suini  
alimentati con diverse quantità di Toprina**

	p. p. m.			
	A (a)	B (b)	C (c)	D (d)
Piombo . . . . .	0,10	0,10	0,25	0,17
Cadmio . . . . .	0,35	0,25	0,20	0,40
Mercurio . . . . .	0,01	0,015	0,01	0,01

Ogni risultato è media di 2 determinazioni relative ad un egual numero di suini.

(a) Senza Toprina.

(b) 15 % Toprina.

(c) 30 % Toprina.

3. - *Sperimentazione su vacche da latte*

3.1. - *Aspetti zootecnici.*

La sperimentazione sulle vacche da latte è stata condotta su quattro gruppi di 8 soggetti ciascuno, scelti in modo da costituire gruppi confrontabili per la produzione dal latte. I quattro gruppi sono stati alimentati con la dieta A (senza Toprina), B (10 % di Toprina), C (20 % di Toprina) e D (12 % di Toprina) (Tab. 15). Le diete A, B e C contenevano il 22 % di proteine.

TABELLA 15

**Formulazione delle diete per vacche da latte**

COMPONENTE	%			
	A	B	C	D
Farina di mais . . . . .	50	50	60	60
Cruschelli . . . . .	17	15	17	15
Farina arachide . . . . .	30	17	—	—
Toprina . . . . .	—	10	20	12
Integratore minerale vitaminico . . . . .	3	3	3	3

sulla sostanza secca, mentre il contenuto proteico della dieta D era pari al 10 %. La sperimentazione è iniziata ad una distanza media dal parto di circa 80 giorni e si è conclusa dopo 6 mesi e mezzo. Le produzioni ed i contenuti medi di protidi e lipidi del latte prodotto nel corso della prova sono riportati nella Tab. 16. Nessuna differenza tra i gruppi è risultata significativa.

Il contenuto medio degli eritrociti ha mostrato una marcata costanza durante il periodo sperimentale con valori intorno a 6 milioni/mm<sup>3</sup> senza differenze tra i gruppi. Il contenuto medio dei leucociti è rimasto costantemente su valori fisiologicamente normali (6.000/mm<sup>3</sup>) soltanto nel gruppo C (quello con il 20 % di Toprina), mentre negli altri gruppi si sono riscontrati casi di iperleucocitosi che hanno coinciso con lievi manifestazioni di mastiti provocate da forme infettive non legate all'alimentazione.

Le concentrazioni medie di emoglobina sono risultate comprese tra 10,4 e 13,7 g/100 ml, limiti che si possono considerare fisiologici, senza differenze significative imputabili agli alimenti, anche se il gruppo D si è mantenuto costantemente su valori più bassi rispetto agli altri.

Le variazioni di peso vivo riscontrate, tutte in aumento per i quattro gruppi, non sono risultate dipendenti dall'alimentazione, ma dai diversi stadi fisiologici (gravidezze più o meno marcate).

Nel corso dell'esperimento non si sono presentati casi clinici degni di rilievo se si eccettuano le manifestazioni di mastite alle quali si è già accennato, peraltro non attribuibili all'alimentazione.

### 3.2. - *Lipidi totali e fosfolipidi.*

I contenuti di lipidi totali di campioni di latte prelevati ad intervalli di un mese per circa 7 mesi da vacche alimentate senza Toprina (A) e con 10 (B), 20 (C) e 12 % (D) di Toprina sono riportate in Tab. 17. Come risulta dalla tabella la presenza della Toprina nella dieta non influenza in modo statisticamente significativo il contenuto lipidico del latte. Analogamente, nessuna significativa influenza della Toprina sul contenuto di fosfolipidi poté essere evidenziata. In tutti i campioni di latte analizzati, infatti, i fosfolipidi rappresentano lo 0,7 % circa dei lipidi totali. Per tutti i gruppi di animali in esperimento, invece, si osservò un lieve ma statisticamente significativo aumento dei lipidi totali e dei fosfolipidi con il procedere dell'esperimento (Tab. 17).

### 3.3. - *Acidi grassi del latte.*

Le composizioni degli acidi grassi totali di campioni di latte prelevati ad intervalli di un mese per circa 7 mesi da vacche alimentate senza To-

TABELLA 16

## Produzione e composizione del latte di vacche alimentate con diverse quantità di Toprina

	A (a)	B (b)	C (c)	D (d)
Latte . . . . .	2.692,3 ± 309,0	2.810,5 ± 298,5	2.668,0 ± 390,7	2.737,0 ± 357,8
Lipidi % . . . . .	3,4 ± 0,2	3,49 ± 0,3	3,5 ± 0,1	3,4 ± 0,1
Protidi % . . . . .	3,1 ± 0,1	3,21 ± 0,1	3,2 ± 0,1	3,2 ± 0,1

Ogni risultato è media di 8 risultati corrispondenti ad un egual numero di animali.  
(a) Senza Toprina. - (b) 10 %, Toprina. - (c) 20 %, Toprina. - (d) 12 %, Toprina.

TABELLA 17

## Lipidi totali di campioni di latte prelevati a tempi diversi da vacche alimentate con diverse quantità di Toprina

PRELEVO	g di lipidi/100 ml di latte			
	A (a)	B (b)	C (c)	D (d)
I . . . . .	2,96 ± 0,31	3,51 ± 0,53	3,23 ± 0,68	3,28 ± 0,47
II . . . . .	3,52 ± 0,36	3,61 ± 0,35	3,29 ± 0,27	3,24 ± 0,44
III . . . . .	3,51 ± 0,21	3,97 ± 0,36	3,78 ± 0,11	3,53 ± 0,40
IV . . . . .	3,28 ± 0,33	3,50 ± 0,25	3,29 ± 0,23	3,35 ± 0,39
V . . . . .	3,37 ± 0,87	3,88 ± 0,47	3,14 ± 0,01	3,69 ± 0,35
VI . . . . .	3,19 ± 0,39	3,63 ± 0,29	3,91 ± 0,51	3,54 ± 0,26
VII . . . . .	3,71 ± 0,63	3,88 ± 0,51	3,99 ± 0,67	3,87 ± 0,43

I prelievi I, II, III, IV, V, VI, VII sono stati effettuati a distanze di un mese l'uno dall'altro. Il primo prelievo fu effettuato il 29 novembre 1973. Ogni risultato è media di otto determinazioni relative ad un egual numero di vacche.  
(a) Senza Toprina. - (b) 10 %, Toprina. - (c) 20 %, Toprina. - (d) 12 %, Toprina.

prina (A) e con 10 (B), 20 (C) e 12 % (D) di Toprina sono riportate nelle Tab. 18-21. Come risulta da queste tabelle, le composizioni degli acidi grassi dei campioni di latte di tutti i gruppi non sono costanti nel tempo. L'elaborazione statistica dei dati delle Tab. 14-17 ha mostrato che, indipendentemente dalla presenza della Toprina nella dieta, gli acidi capronico ( $C_6$ ), caprilico ( $C_8$ ), caprinico ( $C_{10}$ ), laurico ( $C_{12}$ ), miristico ( $C_{14}$ ), palmitico ( $C_{16}$ ), diminuiscono, mentre gli acidi pentadecanoico ( $C_{15}$ ), palmitoleico ( $C_{16-}$ ), eptadecanoico ( $C_{17}$ ), eptadecenoico ( $C_{17-}$ ), oleico ( $C_{18-}$ ) e linolenico ( $C_{18-=-}$ ) aumentano con il procedere della sperimentazione che iniziò in novembre e finì in giugno (Fig. 16 e 17). Gli acidi butirrico ( $C_4$ ), caproleico ( $C_{10-}$ ), stearico ( $C_{18}$ ) e linoleico ( $C_{18-=-}$ ) non variano significativamente nel corso di tutta la sperimentazione sia nel gruppo di vacche di controllo che in quelli trattati con Toprina. Per quanto riguarda gli effetti attribuibili alla presenza della Toprina nella dieta, si è osservato che, fin dall'inizio della somministrazione, nel latte degli animali trattati i livelli di acido pentadecanoico ( $C_{17}$ ), eptadecanoico ( $C_{17}$ ) ed eptadecenoico ( $C_{17-}$ ) sono più elevati. Tale effetto è statisticamente significativo per tutta la durata dell'esperimento, nonostante le variazioni nei livelli di questi acidi osservate a tempi diversi anche negli animali di controllo. In generale, si può dire che la percentuale degli acidi grassi a numero dispari di atomi di carbonio aumenta progressivamente con la percentuale di Toprina nella dieta. Dalle composizioni di acidi grassi totali delle diete A, B, C, D (Tab. 22) risulta che gli acidi grassi a numero dispari di atomi di carbonio sono assenti nella dieta di controllo e vengono introdotti nelle diete, B, C e D con la Toprina. Al termine dell'esperimento rispetto al gruppo di vacche A, si osserva un aumento del contenuto totale di acidi grassi a numero dispari di atomi di carbonio di circa il 60% nel gruppo B e del 110% nel gruppo C. Contemporaneamente si osserva nel latte degli animali trattati la diminuzione degli acidi caprilico ( $C_8$ ), caprinico ( $C_{10}$ ), laurico ( $C_{12}$ ), miristico ( $C_{14}$ ), palmitico ( $C_{16}$ ), linoleico ( $C_{18-=-}$ ) e linolenico ( $C_{18-=-}$ ) che tuttavia, a differenza dell'aumento degli acidi grassi a numero dispari di atomi di carbonio, non è statisticamente significativo durante l'intera durata della sperimentazione. Infine, le percentuali degli acidi butirrico ( $C_4$ ), caproleico ( $C_{10-}$ ), miristoleico ( $C_{14-}$ ), palmitoleico ( $C_{16-}$ ) e stearico ( $C_{18}$ ) non sono influenzate dalla presenza della Toprina nella dieta. Quando la somministrazione della Toprina alle vacche viene interrotta, si ha una progressiva diminuzione delle percentuali degli acidi a numero dispari di atomi di carbonio nel latte (Fig. 7). Si è osservato che occorrono circa 7 giorni per ritornare ai valori normali.

La composizione degli acidi grassi dei formaggi è risultata praticamente identica a quella del latte con cui erano stati preparati.

TABELLA 18

**Composizione % degli acidi grassi totali di campioni di latte prelevati  
a tempi diversi da vacche alimentate senza Toprina (dieta A)**

ACIDO GRASSO	PRELIEVI						
	I	II	III	IV	V	VI	VII
C <sub>4</sub>	4,06 ± 0,78	3,63 ± 0,35	3,80 ± 0,68	4,19 ± 0,57	3,80 ± 0,91	3,24 ± 0,57	3,57 ± 0,56
C <sub>6</sub>	2,79 ± 0,41	2,67 ± 0,39	2,56 ± 0,31	2,62 ± 0,24	2,53 ± 0,54	2,10 ± 0,30	2,32 ± 0,41
C <sub>8</sub>	1,79 ± 0,23	1,75 ± 0,27	1,57 ± 0,17	1,56 ± 0,18	1,57 ± 0,28	1,27 ± 0,18	1,32 ± 0,27
C <sub>10</sub>	3,87 ± 0,49	4,16 ± 0,78	3,27 ± 0,41	3,39 ± 0,36	3,47 ± 0,67	2,75 ± 0,48	2,59 ± 0,56
C <sub>10</sub> ==	0,32 ± 0,05	0,46 ± 0,15	0,35 ± 0,04	0,36 ± 0,09	0,39 ± 0,14	0,28 ± 0,09	0,30 ± 0,09
C <sub>12</sub>	4,12 ± 0,47	4,29 ± 0,35	3,65 ± 0,26	3,85 ± 0,34	4,07 ± 0,57	3,26 ± 0,56	2,84 ± 0,41
C <sub>x</sub>	0,26 ± 0,18	0,37 ± 0,25	0,19 ± 0,03	0,23 ± 0,03	0,32 ± 0,18	0,35 ± 0,13	0,36 ± 0,08
C <sub>14</sub>	11,84 ± 1,15	12,93 ± 0,98	11,35 ± 1,45	11,53 ± 0,74	11,75 ± 0,99	10,92 ± 1,54	10,36 ± 1,65
C <sub>14</sub> ==	1,74 ± 0,38	2,02 ± 0,27	1,91 ± 0,30	2,58 ± 0,22	2,65 ± 0,33	2,93 ± 0,47	3,10 ± 0,48
C <sub>18</sub>	1,48 ± 0,06	1,60 ± 0,18	1,49 ± 1,19	1,73 ± 0,21	1,89 ± 0,31	1,86 ± 0,22	1,91 ± 0,29
C <sub>y</sub>	0,38 ± 0,09	0,38 ± 0,09	0,42 ± 0,04	0,47 ± 0,10	0,63 ± 0,19	0,70 ± 0,25	0,70 ± 0,22
C <sub>16</sub>	27,76 ± 2,57	28,97 ± 2,38	27,57 ± 2,04	25,93 ± 4,34	24,75 ± 1,89	24,79 ± 3,31	25,18 ± 2,27
C <sub>16</sub> ==	2,02 ± 0,50	2,38 ± 0,82	2,10 ± 0,55	2,30 ± 0,63	2,38 ± 0,48	2,84 ± 0,70	2,72 ± 0,43
C <sub>17</sub>	1,04 ± 0,20	1,07 ± 0,20	1,07 ± 0,33	1,17 ± 0,27	1,34 ± 0,25	1,34 ± 0,29	1,17 ± 0,31
C <sub>17</sub> ==	0,54 ± 0,15	0,43 ± 0,25	0,53 ± 0,18	0,53 ± 0,06	0,72 ± 0,33	0,79 ± 0,32	0,66 ± 0,20
C <sub>18</sub>	11,08 ± 1,45	8,75 ± 1,75	11,01 ± 1,98	10,74 ± 2,33	10,65 ± 1,55	11,34 ± 2,01	10,97 ± 1,85
C <sub>18</sub> ==	21,80 ± 2,03	19,95 ± 1,09	23,87 ± 1,94	22,31 ± 2,31	23,19 ± 2,32	25,33 ± 3,03	26,06 ± 2,19
C <sub>18</sub> ==	1,90 ± 0,28	2,16 ± 0,49	2,01 ± 0,57	2,55 ± 1,91	2,29 ± 0,67	2,03 ± 0,28	2,22 ± 0,64
C <sub>18</sub> ==	1,12 ± 0,71	1,49 ± 0,94	1,24 ± 0,26	1,71 ± 0,70	1,50 ± 0,42	1,79 ± 0,58	1,59 ± 0,37
Acidi grassi dispari totali	3,06	3,10	3,09	3,43	3,95	3,99	3,74

I prelievi I, II, III, IV, V, VI, VII sono stati effettuati a distanza di un mese l'uno dall'altro.

Il primo prelievo fu effettuato il 29 novembre 1973.

Ogni risultato è media di 4 determinazioni relative ad un egual numero di vacche.

TABELLA 19

Composizione % degli acidi grassi totali di campioni di latte prelevati a tempi diversi da vacche alimentate con il 10 % di Toprina (dieta B)

ACIDO GRASSO	PRELIEVI							VII
	I	II	III	IV	V	VI	VII	
C <sub>4</sub> acido butirrico . . .	4,38 ± 0,77	3,96 ± 0,56	4,18 ± 1,07	4,14 ± 0,52	3,38 ± 0,30	3,89 ± 0,57	4,08 ± 0,78	
C <sub>6</sub> acido capronico . . .	2,82 ± 0,32	2,84 ± 0,35	2,69 ± 0,50	2,64 ± 0,22	2,19 ± 0,16	2,60 ± 0,64	2,72 ± 0,34	
C <sub>8</sub> acido caprilico . . .	1,58 ± 0,27	1,69 ± 0,16	1,49 ± 0,22	1,55 ± 0,26	1,32 ± 0,14	1,49 ± 0,35	1,41 ± 0,19	
C <sub>10</sub> acido caprinico . . .	3,58 ± 0,36	3,45 ± 0,44	2,99 ± 0,46	3,30 ± 0,40	2,97 ± 0,25	2,98 ± 0,61	2,85 ± 0,41	
C <sub>10</sub> acido caprolico . . .	0,40 ± 0,19	0,51 ± 0,29	0,35 ± 0,11	0,33 ± 0,07	0,30 ± 0,07	0,36 ± 0,18	0,35 ± 0,11	
C <sub>12</sub> acido laurico . . .	3,94 ± 0,35	3,92 ± 0,43	3,36 ± 0,55	3,74 ± 0,31	3,50 ± 0,36	3,25 ± 0,46	3,09 ± 0,45	
C <sub>X</sub> non identificato . . .	0,30 ± 0,14	0,29 ± 0,20	0,23 ± 0,12	0,25 ± 0,08	0,24 ± 0,12	0,28 ± 0,09	0,39 ± 0,09	
C <sub>11</sub> acido miristico . . .	11,49 ± 1,38	11,89 ± 1,19	10,50 ± 1,35	11,23 ± 1,17	11,09 ± 0,77	10,33 ± 1,93	9,73 ± 0,93	
C <sub>14</sub> acido miristoleico . . .	2,13 ± 0,47	2,30 ± 0,30	2,07 ± 0,46	2,36 ± 0,50	2,52 ± 0,22	2,71 ± 0,60	3,11 ± 0,47	
C <sub>15</sub> acido pentadecanico . . .	1,68 ± 0,23	2,04 ± 0,22	1,95 ± 0,27	1,99 ± 0,35	2,20 ± 0,27	2,20 ± 0,18	2,34 ± 0,24	
C <sub>7</sub> non identificato . . .	0,49 ± 0,12	0,45 ± 0,04	0,44 ± 0,09	0,43 ± 0,10	0,54 ± 0,09	0,51 ± 0,13	0,60 ± 0,28	
C <sub>10</sub> acido palmitico . . .	27,99 ± 2,56	29,82 ± 2,57	26,81 ± 2,18	27,27 ± 2,64	26,31 ± 1,96	26,04 ± 3,45	24,78 ± 2,21	
C <sub>16</sub> acido palmitoleico . . .	2,12 ± 0,26	2,11 ± 0,43	2,16 ± 0,28	2,10 ± 0,44	2,42 ± 0,46	2,39 ± 0,26	2,89 ± 0,38	
C <sub>17</sub> acido eptadecanico . . .	1,11 ± 0,28	2,72 ± 0,36	2,89 ± 0,50	2,68 ± 0,36	2,92 ± 0,48	3,04 ± 0,50	3,09 ± 0,34	
C <sub>17</sub> acido eptadecenoico . . .	0,49 ± 0,12	1,24 ± 0,17	1,31 ± 0,20	1,28 ± 0,19	1,37 ± 0,24	1,44 ± 0,25	1,55 ± 0,17	
C <sub>18</sub> acido stearico . . .	10,37 ± 1,57	8,73 ± 1,37	10,91 ± 1,91	9,84 ± 1,97	10,53 ± 1,85	10,60 ± 2,44	10,16 ± 1,82	
C <sub>18</sub> acido oleico . . .	21,99 ± 2,37	19,43 ± 1,20	22,83 ± 2,27	21,60 ± 1,96	22,57 ± 1,13	23,10 ± 2,88	23,23 ± 2,23	
C <sub>18</sub> acido linoleico . . .	1,74 ± 0,33	1,57 ± 0,48	1,78 ± 0,16	2,02 ± 0,59	2,09 ± 0,27	1,27 ± 0,22	1,92 ± 0,34	
C <sub>18</sub> acido linolenico . . .	1,12 ± 0,38	0,91 ± 0,13	1,01 ± 0,14	1,29 ± 0,38	1,47 ± 0,41	1,24 ± 0,24	1,77 ± 0,39	
Acidi grassi dispari totali . . .	3,28	6,00	6,15	5,95	6,49	6,68	6,98	

I prelievi I, II, III, IV, V, VI e VII sono stati effettuati a distanza di un mese l'uno dall'altro. Il primo prelievo fu effettuato il 29 novembre 1973. Ogni risultato è media di 8 determinazioni relative ad un egual numero di vacche.

TABELLA 20

Composizione % degli acidi grassi totali di campioni di latte prelevati a tempi diversi da vacche alimentate con il 20 % di Toprina (dieta C)

ACIDO GRASSO	PRELIEVI							
	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII
C <sub>4</sub>	4,20 ± 0,78	3,69 ± 0,28	4,09 ± 0,77	4,11 ± 0,50	3,28 ± 0,26	3,71 ± 0,59	3,56 ± 0,63	
C <sub>6</sub>	2,78 ± 0,18	2,51 ± 0,14	2,47 ± 0,23	2,34 ± 0,41	2,11 ± 0,17	2,22 ± 0,48	2,12 ± 0,42	
C <sub>8</sub>	1,70 ± 0,21	1,50 ± 0,09	1,37 ± 0,16	1,37 ± 0,22	1,22 ± 0,14	1,21 ± 0,32	1,08 ± 0,25	
C <sub>10</sub>	3,72 ± 0,48	3,15 ± 0,21	2,74 ± 0,35	2,80 ± 0,44	2,54 ± 0,36	2,40 ± 0,56	2,29 ± 0,56	
C <sub>10</sub> ...	0,33 ± 0,07	0,39 ± 0,06	0,32 ± 0,08	0,31 ± 0,11	0,29 ± 0,05	0,25 ± 0,08	0,27 ± 0,08	
C <sub>12</sub>	4,19 ± 0,61	3,70 ± 0,52	3,05 ± 0,45	3,19 ± 0,46	3,30 ± 0,25	2,66 ± 0,51	2,60 ± 0,52	
C <sub>x</sub>	0,28 ± 0,13	0,36 ± 0,25	0,25 ± 0,06	0,38 ± 0,13	0,24 ± 0,04	0,27 ± 0,05	0,37 ± 0,10	
C <sub>14</sub>	11,71 ± 1,81	11,30 ± 0,55	9,88 ± 1,33	10,25 ± 1,22	10,40 ± 0,55	9,55 ± 1,85	8,67 ± 1,02	
C <sub>14</sub> ...	1,95 ± 0,49	2,08 ± 0,28	1,86 ± 0,27	2,36 ± 0,25	2,34 ± 0,32	2,48 ± 0,23	2,87 ± 0,45	
C <sub>15</sub>	1,49 ± 0,27	2,38 ± 0,13	2,41 ± 0,29	2,47 ± 0,24	2,60 ± 0,34	2,63 ± 0,24	2,57 ± 0,63	
C <sub>7</sub>	0,45 ± 0,15	0,48 ± 0,08	0,50 ± 0,13	0,48 ± 0,11	0,60 ± 0,16	0,56 ± 0,12	0,77 ± 0,15	
C <sub>16</sub>	29,28 ± 2,93	28,31 ± 1,76	25,27 ± 1,45	25,38 ± 2,31	25,05 ± 1,15	25,24 ± 2,46	23,83 ± 1,34	
C <sub>16</sub> ...	1,83 ± 0,53	2,37 ± 0,42	2,17 ± 0,38	1,96 ± 0,32	2,33 ± 0,35	2,39 ± 0,17	2,87 ± 0,27	
C <sub>17</sub>	1,00 ± 0,18	4,37 ± 0,27	4,82 ± 0,28	4,57 ± 0,47	4,55 ± 0,55	4,89 ± 0,48	4,37 ± 0,40	
C <sub>17</sub> ...	0,52 ± 0,11	2,40 ± 0,28	2,47 ± 0,19	2,57 ± 0,33	2,28 ± 0,24	2,54 ± 0,35	2,46 ± 0,17	
C <sub>18</sub>	10,26 ± 1,76	8,18 ± 0,61	10,23 ± 1,25	9,43 ± 1,71	10,26 ± 1,01	9,90 ± 1,05	10,80 ± 1,33	
C <sub>18</sub> ...	21,41 ± 2,43	20,24 ± 1,06	23,40 ± 1,58	23,06 ± 2,02	22,82 ± 0,78	24,41 ± 1,18	24,99 ± 1,32	
C <sub>18</sub> ...	1,83 ± 0,35	1,70 ± 0,43	1,66 ± 0,32	1,83 ± 0,52	2,07 ± 0,54	1,35 ± 0,37	1,72 ± 0,50	
C <sub>18</sub> ...	1,16 ± 0,50	0,88 ± 0,38	1,02 ± 0,19	1,06 ± 0,24	1,58 ± 0,67	1,08 ± 0,49	1,58 ± 0,44	
Acidi grassi dispari totali	3,01	9,15	9,70	9,61	9,43	10,06	9,40	

I prelievi I, II, III, IV, V, VI e VII sono stati effettuati a distanza di un mese l'uno dall'altro.

Il primo prelievo fu effettuato il 29 novembre 1973.

Ogni risultato è media di 8 determinazioni relative ad un egual numero di vacche.

TABELLA 21

**Composizione % degli acidi grassi totali di campioni di latte prelevati a tempi diversi da vacche alimentate con il 12 % di Toprina (dieta D)**

ACIDO GRASSO	PRELIEVI						
	I	II	III	IV	V	VI	VII
C <sub>4</sub>	4,22 ± 0,64	3,81 ± 0,74	4,12 ± 0,67	4,08 ± 0,66	3,33 ± 0,20	3,61 ± 0,68	3,53 ± 0,64
C <sub>6</sub>	2,79 ± 0,28	2,44 ± 0,38	2,44 ± 0,26	2,56 ± 0,27	2,22 ± 0,12	2,35 ± 0,36	2,21 ± 0,23
C <sub>8</sub>	1,83 ± 0,40	1,47 ± 0,24	1,34 ± 0,16	1,41 ± 0,20	1,33 ± 0,13	1,33 ± 0,37	1,26 ± 0,25
C <sub>10</sub>	3,29 ± 0,89	3,18 ± 0,55	2,52 ± 0,37	2,98 ± 0,56	2,83 ± 0,27	2,70 ± 0,58	2,53 ± 0,46
C <sub>10</sub> =	0,35 ± 0,06	0,39 ± 0,08	0,34 ± 0,06	0,39 ± 0,11	0,33 ± 0,06	0,32 ± 0,07	0,34 ± 0,08
C <sub>12</sub>	3,64 ± 0,79	3,53 ± 0,54	2,92 ± 0,35	3,39 ± 0,55	3,43 ± 0,46	3,01 ± 0,64	2,92 ± 0,61
C <sub>x</sub>	0,20 ± 0,05	0,36 ± 0,19	0,22 ± 0,04	0,23 ± 0,10	0,26 ± 0,06	0,29 ± 0,09	0,33 ± 0,08
C <sub>14</sub>	11,80 ± 1,65	10,90 ± 1,01	9,77 ± 1,18	10,57 ± 1,01	10,99 ± 0,65	10,00 ± 1,46	10,46 ± 0,96
C <sub>14</sub> =	1,92 ± 0,53	2,11 ± 0,52	2,14 ± 0,46	2,48 ± 0,51	2,43 ± 0,43	2,78 ± 0,38	3,13 ± 0,28
C <sub>16</sub>	1,40 ± 0,23	1,98 ± 0,32	2,02 ± 0,25	1,85 ± 0,14	2,15 ± 0,33	2,07 ± 0,27	2,28 ± 0,27
C <sub>y</sub>	0,39 ± 0,07	0,42 ± 0,10	0,42 ± 0,09	0,36 ± 0,09	0,54 ± 0,18	0,60 ± 0,25	0,69 ± 0,27
C <sub>16</sub>	27,33 ± 4,75	26,23 ± 3,58	24,65 ± 2,33	25,52 ± 2,49	24,34 ± 2,34	22,67 ± 2,92	24,06 ± 2,69
C <sub>16</sub> -	2,40 ± 0,41	2,19 ± 0,40	2,41 ± 0,38	2,47 ± 0,59	2,55 ± 0,54	2,95 ± 0,70	3,13 ± 0,53
C <sub>17</sub>	0,94 ± 0,18	3,11 ± 0,76	3,33 ± 0,54	2,93 ± 0,49	3,16 ± 0,46	3,53 ± 0,46	3,41 ± 0,54
C <sub>17</sub> =	0,51 ± 0,10	1,92 ± 0,23	1,90 ± 0,28	1,60 ± 0,23	1,18 ± 0,13	2,11 ± 0,25	2,06 ± 0,16
C <sub>18</sub>	10,05 ± 1,42	8,93 ± 1,62	10,19 ± 1,14	9,70 ± 1,94	9,94 ± 2,12	10,15 ± 1,56	9,65 ± 1,91
C <sub>18</sub> =	23,82 ± 5,16	23,68 ± 2,65	26,11 ± 1,53	25,13 ± 2,50	24,67 ± 1,82	25,76 ± 2,53	24,16 ± 1,91
C <sub>18</sub> =	1,86 ± 0,38	1,75 ± 0,30	2,11 ± 0,46	2,11 ± 0,50	2,32 ± 0,39	1,92 ± 0,72	2,10 ± 0,49
C <sub>18</sub> = =	1,69 ± 0,55	1,36 ± 0,81	1,27 ± 0,54	1,27 ± 0,58	1,40 ± 0,24	1,70 ± 0,57	1,71 ± 0,49
Acidi grassi dispari totali . . . .	2,85	7,01	7,25	6,38	6,49	7,71	7,75

I prelievi I, II, III, IV, V, VI e VII sono stati effettuati a distanza di un mese l'uno dall'altro. Il primo prelievo fu effettuato il 29 novembre 1973. Ogni risultato è media di 8 determinazioni relative ad un egual numero di vacche.

## Composizione degli acidi grassi totali dei mangimi per le vacche

ACIDO GRASSO		%			
		A (a)	B (b)	C (c)	D (d)
C <sub>14</sub>	acido miristico . . . . .	—	0,6	0,5	0,3
C <sub>15</sub>	acido pentadecanoico . . . . .	—	2,0	2,9	1,8
C <sub>16</sub>	acido palmitico . . . . .	14,6	15,4	13,2	12,3
C <sub>16</sub> =	acido palmitoleico . . . . .	—	1,3	2,3	1,6
C <sub>17</sub>	acido eptadecanoico . . . . .	—	1,1	1,8	0,8
C <sub>17</sub> =	acido eptadecenoico . . . . .	—	5,6	10,2	7,1
C <sub>17</sub> = =	acido eptadecadienoico . . . . .	—	3,3	4,0	3,4
C <sub>18</sub>	acido stearico . . . . .	2,8	3,4	2,0	1,6
C <sub>18</sub> =	acido oleico . . . . .	30,2	25,6	22,4	31,4
C <sub>18</sub> = =	acido linoleico . . . . .	49,6	39,2	39,6	38,8
C <sub>18</sub> = = =	acido linolenico . . . . .	2,8	1,6	1,3	1,1
TOTALI acidi grassi dispari . . . . .		—	12,0	18,9	13,1

(a) Senza Toprina.

(b) 10 % Toprina.

(c) 20 % Toprina.

(d) 12 % Toprina.

## 4. - Sperimentazione su ratti

## 4.1. - Accrescimento, comportamento clinico e riproduzione.

Questa sperimentazione è stata effettuata su ratti di ambo i sessi alimentati con una dieta sintetica contenente il 5% di grasso estratto dalla Toprina con cloroformio-metanolo (2 : 1 v/v) corrispondente cioè, per quanto riguarda la frazione lipidica, ad una dieta al 50% di Toprina.

Gli esperimenti sulla riproduzione sono stati effettuati su due gruppi di 8 ratte ciascuno. La somministrazione della dieta contenente Toprina cominciò per un gruppo al momento dell'accoppiamento e per l'altro 30 giorni prima. Alcune delle nidiate ottenute sono state sacrificate alla nascita, mentre altre sono state svezzate ed attualmente continuano a ricevere la dieta con grasso di Toprina in attesa che possano essere nuovamente accoppiate. Gli esperimenti sulla digeribilità e sull'accrescimento sono anche stati effettuati su 8 ratti ed in tutti i casi, un egual numero di ratti di controllo fu incluso.

Nessun effetto, attribuibile alla presenza del grasso di Toprina nella dieta, sull'accrescimento, sul comportamento, sulla fertilità e sull'andamento della gravidanza, è stato finora osservato. Gli esperimenti effettuati in gabbia metabolica hanno, inoltre, mostrato una digeribilità *in vivo* del grasso di Toprina del  $97,0 \pm 2,9$  %.

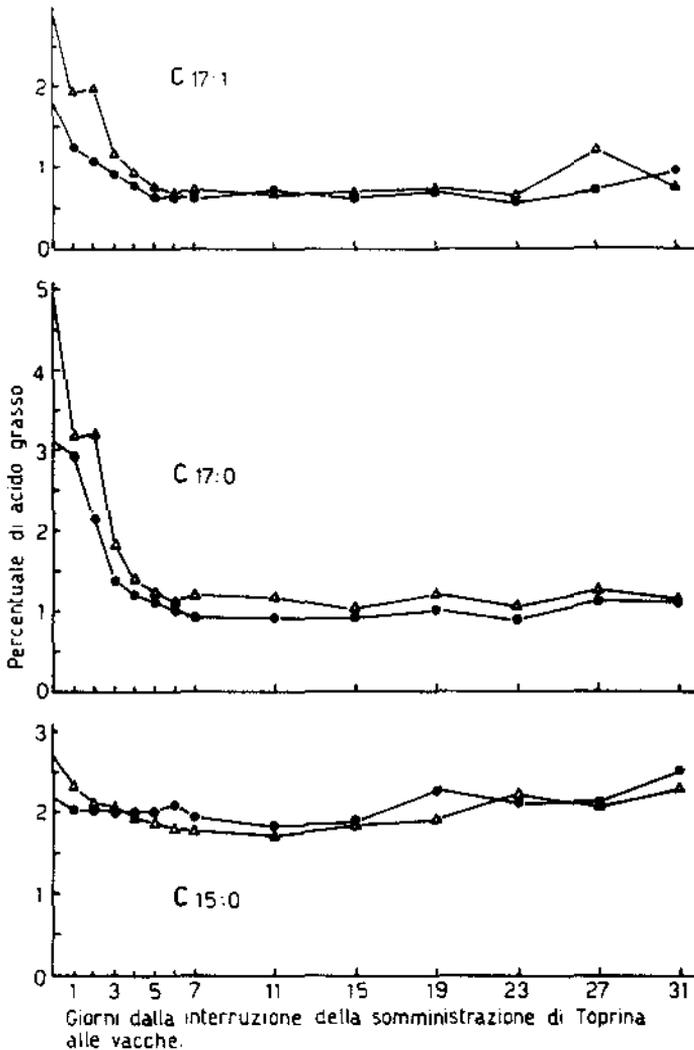


Fig. 7. — Diminuzione degli acidi grassi a numero dispari di atomi di carbonio nel latte di vacche trattate con Toprina a seguito della interruzione della somministrazione di Toprina.

●—● Soggetti trattati con il 10 % di Toprina.

△—△ Soggetti trattati con il 20 % di Toprina.

#### 4.2. — Acidi grassi del tessuto cerebrale e di particelle subcellulari di tessuto epatico.

Le composizioni in acidi grassi estratti da preparazioni mitocondriali e microsomiali di fegato di ratti alimentati col grasso di Toprina per circa 90 giorni sono confrontate a quelle di ratti di controllo nelle Tabb. 23 e 24, rispet-

**Composizione degli acidi grassi totali di preparazione mitocondriali di fegato di ratti alimentati con e senza grasso di Toprina**

ACIDO GRASSO		%	
		Controllo	Trattato (a)
C <sub>4</sub>	acido miristico . . . . .	0,12	0,24
C <sub>15</sub>	acido pentadecanoico . . . . .	0,14	1,03
C <sub>16</sub>	acido palmitico . . . . .	14,67	18,61
C <sub>18</sub> =	acido palmitoleico . . . . .	1,04	2,43
C <sub>17</sub>	acido eptadecanoico . . . . .	0,28	1,59
C <sub>17</sub> =	acido eptadecenoico . . . . .	0,19	0,05
C <sub>17</sub> ==	acido eptadecadienoico . . . . .	—	1,76
C <sub>18</sub>	acido stearico . . . . .	25,15	25,97
C <sub>18</sub> =	acido oleico . . . . .	15,05	12,90
C <sub>18</sub> ==	acido linoleico . . . . .	16,65	11,12
C <sub>18</sub> ===	acido linolenico . . . . .	0,36	0,16
C <sub>x</sub>	non identificato . . . . .	—	2,24
C <sub>20</sub> ===	acido arachidonico . . . . .	26,03	19,90
TOTALI acidi grassi dispari . . . . .		0,58	6,43

(a) Ratti alimentati con una dieta contenente il 5% di grasso di Toprina.

tivamente. I risultati ottenuti mostrano, specialmente nei mitocondri degli animali trattati con grasso di Toprina, un notevole aumento del contenuto degli acidi grassi a numero dispari di atomi di carbonio ed una significativa diminuzione degli acidi grassi insaturi a 18 atomi di carbonio e dell'acido arachidonico.

Per quanto riguarda i livelli degli acidi grassi a numero dispari di atomi di carbonio, i risultati preliminari in nostro possesso indicano che la percentuale di acidi grassi dispari totali aumenta nelle carcasse dei neonati passando da tracce nei controlli al 6% circa nei gruppi trattati, per raggiungere valori del 12% allo svezzamento. Nei cervelli dei neonati trattati, gli acidi grassi a numero dispari di atomi di carbonio sono presenti in tracce (circa lo 0,23%), mentre essi aumentano fino al 3% nel loro complesso allo svezzamento. Nessuna differenza fu osservata fra i nati da ratte alimentate con grasso di Toprina fin da 30 giorni prima del parto e quelli di ratte in cui la somministrazione di Toprina fu iniziata al momento dell'accoppiamento.

**Composizione degli acidi grassi totali di preparazione microsomiali di fegato di ratti alimentati con e senza grasso di Toprina**

ACIDO GRASSO		%	
		Controllo	Trattato (a)
C <sub>14</sub>	acido miristico . . . . .	0,95	1,20
C <sub>15</sub>	acido pentadecanoico . . . . .	0,16	0,65
C <sub>16</sub>	acido palmitico . . . . .	18,83	22,50
C <sub>16</sub> =	acido palmitoleico . . . . .	0,98	1,22
C <sub>17</sub>	acido eptadecanoico . . . . .	0,66	1,42
C <sub>17</sub> =	acido eptadecenoico . . . . .	0,45	1,51
C <sub>17</sub> ==	acido eptadecadienoico . . . . .	—	1,00
C <sub>18</sub>	acido stearico . . . . .	30,82	32,65
C <sub>18</sub> =	acido oleico . . . . .	9,58	12,91
C <sub>18</sub> ==	acido linoleico . . . . .	11,03	8,14
C <sub>18</sub> ===	acido linolenico . . . . .	0,33	0,05
C <sub>x</sub>	non identificato . . . . .	—	1,00
C <sub>20</sub> ===	acido arachidonico . . . . .	26,25	17,05
TOTALI acidi grassi dispari . . . . .		1,27	4,58

(a) Ratti alimentati con una dieta contenente il 5% di grasso di Toprina.

### DISCUSSIONE

Gli esperimenti nutrizionali effettuati con la Toprina su suini, vacche da latte e su ratti hanno dato risultati soddisfacenti sia per quanto riguarda l'accrescimento degli animali che il loro comportamento clinico. Anche la produzione di latte delle vacche da latte e la qualità dei prosciutti, insaccati e formaggi ottenuti dagli animali trattati non è stata influenzata dalla Toprina. Il fatto che i suini alimentati con Toprina abbiano avuto un accrescimento corporeo identico a quello dei suini di controllo anche in assenza dell'aggiunta di metionina è da attribuire al fatto che le diete usate contengono quantità di proteine tali da garantire i fabbisogni minimi di questo amminoacido.

La crescita dei suini non è stata influenzata neppure dai fenomeni allergici in atto che, al momento, non sappiamo se attribuire ad una accentuata parassitosi intestinale o piuttosto ad una risposta di tipo allergico-

iperergico dell'apparato digerente ad una sostanza eterogenea. Inoltre, è stata dimostrata la presenza nel tessuto adiposo ed, in minor misura, in quello cardiaco dei suini trattati, di n-paraffine a composizione identica a quella della Toprina. Questa osservazione indica che le n-paraffine della Toprina in certa misura vengono assorbite come tali attraverso la mucosa intestinale e sono distribuite attraverso l'organismo dell'animale trattato. Non sono state osservate quantità rilevabili di paraffine nel cervello e nel fegato dei suini, né nel latte delle vacche. Poiché il dosaggio delle n-paraffine non è stato effettuato in tutti gli organi e non abbiamo svolto esperimenti per accertare la percentuale delle paraffine assorbite rispetto a quelle ingerite, non possiamo escludere eventuali accumuli di n-paraffine in organi non analizzati. Sarebbe, inoltre, necessario valutare se l'assorbimento delle n-paraffine della Toprina da parte dei tessuti degli animali che se ne alimentano possa aumentare in presenza di stati patologici che ne alterino i meccanismi di assorbimento e di trasporto od in presenza di sostanze che possano spiegare un effetto sinergistico nell'assorbimento delle paraffine.

Nei tessuti degli animali trattati con Toprina, si è osservato inoltre un forte aumento degli acidi grassi dispari ed una concomitante diminuzione dei pari, dato che gli acidi grassi totali restano invariati. Questi effetti sono chiaramente correlati alla peculiare composizione degli acidi grassi della Toprina ed alla percentuale di Toprina presente nella dieta. I livelli di assimilazione da parte degli animali degli acidi grassi a numero dispari di atomi di carbonio presenti nella dieta potrebbero essere in realtà maggiori di quelle da noi determinate, se rilevanti quantità di acidi grassi a numero dispari di atomi di carbonio, come è possibile, vengono trasformati negli idrossiacidi ed aldeidi corrispondenti.

In conclusione, la sperimentazione descritta in questo lavoro ha dimostrato che nella Toprina sono presenti alcuni costituenti che la differenziano dai mangimi attualmente usati nell'alimentazione animale. Inoltre, a seconda della quantità di Toprina nella dieta, quantità più o meno rilevanti di alcuni costituenti peculiari della Toprina si ritrovano nelle carni e nei grassi degli animali trattati che sono, pertanto, in qualche modo diversi da quelli attualmente reperibili sul mercato.

#### BIBLIOGRAFIA

1. LEVINSON, S.A. & MC FATE, R.P. 1961. *Trattato di Diagnostica e Tecnica di Laboratorio*. Piccin Editore.
2. BECCARI, N. & MAZZI, V. 1966. *Manuale di Tecnica Microscopica*. SEL Editore.
3. CASTAGNOLI, B. & TIECCO, G. 1963. *Guida all'Esame Microbiologico degli Alimenti di Origine Animale*. Ed. Istisan Vet. 3.

4. FOLCH, J., LEES, M. & SLOANE STANLEY, G.M. 1957. A simple method for the isolation and purification of total lipides from animal tissues. *J. Biol. Chem.* 226: 497-509.
5. BARTLETT, G.R. 1969. Phosphorus assay in column chromatography. *J. Biol. Chem.* 234: 466-468.
6. MARINETTI, G.U. 1962. Chromatographic separation, identification, and analysis of phosphatides. *J. Lip. Res.* 3: 1.
7. American Public Health Association. 1965. *Methods for Examination of Water and Waste Water*, New York.
8. HORNSTRA, G. 1972. Digestibility, efficiency and other metabolic effects of dietary rapeseed oil in rats. *Nutr. Metab.* 14: 282-296.
9. LARDY, M.A. & WELLMAN, M. 1952. Oxidative phosphorylations: role of inorganic phosphate and acceptor system in control of metabolic rates. *J. Biol. Chem.* 195: 215-224.
10. BELOFF-CHAIN, A., SERLUPI-CRESCENZI, G., CATANZARO, R., VENETTACCI, D. & BALIANO, M. 1965. Influence of iron on oxidation of reduced nicotinamide-adenine-dinucleotide phosphate in rat-liver microsomes. *Biochim. Biophys. Act.* 97: 416-421.
11. LISON, L. 1961. *Statistica Applicata alla Biologia Sperimentale*. Ed. CEA.
12. SHAPIRO, S.S. & WILK, M.B. 1965. An analysis of variance test for normality (complex sample). *Biometrika.* 52: 591-596.
13. CAMPBELL, R.C. 1967. *Statistics for Biologists*. Cambridge Univ. Press.
14. SIEGEL, S. 1967. *Statistica non Parametrica*. Ed. OS.
15. TAGGI, F. 1974. *Programmi e Sottoprogrammi di Utilità*. Ed. Istisan/Chim. 1 e 2.