

Impiego di *Saccharomyces cerevisiae* nell'alimentazione del pollo da carne: 1. Effetto su performance e composizione della carne

Gabriele Acuti¹, Claudio Forte¹, Dino Miraglia¹, Raffaella Branciarri¹, David Ranucci¹, Massimo Trabalza-Marinucci¹, Deborah Pacetti², Michele Balzano², Natale G. Frega²

¹Dipartimento di Medicina Veterinaria, Università degli Studi di Perugia, Perugia, Italy; ²Dipartimento di Scienze Agrarie, Alimentari e Ambientali, Università Politecnica delle Marche, Ancona, Italy

«EFFECTS OF SACCHAROMYCES CEREVISIAE IN BROILER DIETS: 1. PERFORMANCE AND MEAT COMPOSITION»

Summary. The effects of a dietary supplementation with inactivated *Saccharomyces cerevisiae* on broiler performance and meat chemical composition were evaluated. The experimental protocol involved 600 day-old chicks allocated in 4 pens of 150 subjects each. The four diets were based on a commercial feed used as a control (C) enriched with conjugated linoleic (CLA) and ω 3 polyunsaturated (ω 3 PUFA) fatty acids. For the constitution of the other three experimental feeds, 150 mg/kg of vitamin E (E), 1.5 g/kg of inactivated yeast (Sc), or an association of vitamin E and inactivated yeast at the same doses above mentioned (ScE) were added. The animals were slaughtered at 54 days of age when they had an average live weight of 2300 g. In vivo and post mortem performance was higher in the ScE group compared to the other experimental groups. The dietary treatment did not induce changes in meat composition. The vitamin E supplementation resulted in a greater accumulation of PUFA and CLA in meat, when compared to the other treatments. The lowest values of CLA in muscle samples were recorded in the Sc and ScE groups. The TBARs method showed a marked positive effect of vitamin E on meat oxidative stability, with lower values recorded in both E and ScE groups. Further studies are needed to understand the inactivated yeast mode of action on intestinal ecosystem and on meat under different storage conditions.

Key words: *Saccharomyces cerevisiae*, vitamin E, broiler performance, meat composition, conjugated linoleic fatty acids

Riassunto. Sono stati valutati gli effetti di un'integrazione alimentare di *Saccharomyces cerevisiae* inattivato sulle performance ponderali di broiler allevati a terra e sulla composizione chimica della carne. Il protocollo sperimentale ha previsto l'accasamento di 600 pulcini di un giorno di età in 4 recinti da 150 soggetti ciascuno, destinati a 4 trattamenti alimentari diversi. Le diete erano basate su un mangime commerciale utilizzato come controllo (C), arricchito di isomeri coniugati dell'acido linoleico (CLA) e di acidi grassi polinsaturi della serie ω 3 (PUFA ω 3). Per la costituzione degli altri 3 mangimi sperimentali, a questo mangime sono stati aggiunti 150 mg/kg di vitamina E (gruppo E), lievito inattivato in ragione di 1,5 g/kg (gruppo Sc), oppure un'associazione di vitamina E e lievito inattivato agli stessi dosaggi sopracitati (gruppo ScE). Gli animali sono stati macellati al raggiungimento del peso vivo (PV) medio di 2300 g, a 54 giorni di età. Le performance ponderali, così come il peso e la resa percentuale delle carcasse, sono risultati migliori nel gruppo ScE rispetto agli altri gruppi sperimentali. Il trattamento alimentare non ha indotto variazioni della qualità bromatologica della carne. L'integrazione della dieta con vitamina E ha determinato un maggiore accumulo di PUFA e CLA

nella carne rispetto agli altri trattamenti; i valori più bassi di CLA si sono registrati nei campioni di muscolo dei gruppi Sc e ScE. La determinazione della stabilità ossidativa (metodo TBARs) ha evidenziato un marcato effetto positivo della vitamina E, che si è tradotto in una diminuzione ($P < 0,001$) dei valori sia nel gruppo E che nel gruppo ScE. Ulteriori studi si rendono necessari per approfondire le conoscenze relative al meccanismo d'azione del lievito inattivato a livello di ecosistema intestinale e per valutare l'effetto della dieta sulla carne sottoposta a differenti modalità di conservazione e a diversi tempi di stoccaggio.

Parole chiave: *Saccharomyces cerevisiae*, vitamina E, performance ponderali, composizione della carne, acidi linoleici coniugati

Introduzione

I lieviti sono da tempo utilizzati come promotori di crescita nei ruminanti (1). Questi microrganismi possono essere utilizzati nell'alimentazione degli animali sia vivi, come probiotici, che inattivati o purificati. Uno dei lieviti che suscita maggiore interesse da un punto di vista scientifico e applicativo è il *Saccharomyces cerevisiae*. Da sempre impiegato per la fermentazione degli alimenti, tale microrganismo ha dimostrato di espletare una serie di azioni positive sull'organismo dell'ospite in diversi modi, ostacolando l'adesione dei batteri patogeni alle cellule intestinali (2) e promuovendo la formazione di complessi lievito/batterio, poi eliminati dall'intestino, grazie alla presenza di mannani a livello di parete cellulare (3). Risulta inoltre ricco di composti immunostimolanti come β -glucani, acidi nucleici, mannani ed altri componenti la parete cellulare (4,5) che, grazie alla presenza di recettori specifici a livello di leucociti e macrofagi extravascolari (6), provocherebbero la liberazione di una maggiore quantità di citochine.

Il generale miglioramento delle performance zootecniche che viene riscontrato dopo la somministrazione di lieviti nell'alimento sarebbe da ricondurre ad una serie di azioni positive quali la riduzione dello stress a cui l'organismo è sottoposto in allevamento, l'incremento dell'assorbimento di vitamine dal lume intestinale ed il miglioramento della sintesi enzimatica e del metabolismo proteico (7).

In letteratura è possibile reperire una molteplicità di studi che testimoniano gli effetti positivi dell'im-

piego alimentare dei lieviti somministrati in diverse forme a numerose specie animali. Tra questi, a titolo di esempio, si può citare un miglioramento del livello di ingestione e dello stato di salute nel bovino da carne (8), un aumento della digeribilità dei nutrienti nell'ovino (9, 10), un incremento delle performance e della risposta immunitaria nel suino (11-13), una corretta modulazione della flora intestinale nel cavallo (14), anche conseguente a stress da trasporto (15), ed un miglioramento della funzionalità del sistema immunitario in alcuni pesci quali l'orata, la tilapia e lo storione ladano (16-18).

Quando integrato nella dieta del pollo, in particolare, il *S. cerevisiae* si è dimostrato capace di migliorare le performance (19, 20), incrementare la funzionalità del sistema immunitario (21, 22), modificare lo sviluppo e la morfologia della mucosa intestinale (23, 22), modulare la microflora intestinale (24) e migliorare la resa della carcassa (25) e la qualità della carne (26). Infine, sostanze quali α -glucani, carbossimetilglucani e mannani, presenti nella parete cellulare di *S. cerevisiae*, hanno dimostrato di possedere buone proprietà antiossidanti (27-33). In altri studi, al contrario, non sono stati riportati risultati positivi conseguenti all'impiego di *S. cerevisiae* nella dieta del broiler (34).

Lo scopo del presente lavoro è stato quello di studiare l'effetto dell'integrazione di *S. cerevisiae* in forma inattivata in diete arricchite di isomeri coniugati dell'acido linoleico (CLA) e di acidi grassi polinsaturi (PUFA) della serie $\omega 3$ sulle performance del broiler e sulla composizione chimica ed il profilo acidico della carne (muscolo *Pectoralis major*).

Materiali e metodi

Animali, dieta e disegno sperimentale

La prova sperimentale, della durata di 54 giorni, è stata condotta in un'azienda avicola del Centro Italia nel periodo compreso da maggio a luglio 2012. Gli animali sono stati trattati secondo le indicazioni della Direttiva Europea sulla protezione degli animali utilizzati a fini scientifici (35). Sono stati impiegati 600 pulcini (femmine appartenenti alla linea genetica Ross 308) di un giorno di età, accasati in 4 recinti da 150 soggetti ciascuno destinati a 4 trattamenti alimentari diversi. Per la gestione delle condizioni micro-climatiche (temperatura, umidità, ventilazione ed illuminazione) si è fatto riferimento a quanto consigliato dalla azienda produttrice (36). I pulcini sono stati immunizzati in incubatoio nei confronti di Malattia di Newcastle, bronchite infettiva, coccidiosi, malattia di Gumboro e malattia di Marek. I richiami vaccinali sono stati successivamente effettuati in allevamento nella terza settimana. Tutti i polli sono stati individualmente identificati mediante l'utilizzo di marche alari.

I gruppi sono stati alimentati con una dieta starter fino al ventunesimo giorno di età e con una dieta grower-finisher fino al termine della prova (Tab. 1). Le diete erano basate su un mangime commerciale costituito prevalentemente da granturco e farina di estrazione di soia, arricchito di acidi linoleici coniugati (CLA) ed acidi grassi polinsaturi (PUFA) della serie ω 3, utilizzato come controllo (C). Per la costituzione degli altri 3 mangimi sperimentali, a questo mangime è stato integrato con: a) 150 mg/kg di vitamina E, utilizzata per la sua attività antiossidante (gruppo E – “controllo positivo”); b) lievito inattivato (Thepax®, Doxal Italia, Sulbiate, Italia) in ragione di 1,5 g/kg (gruppo Sc); c) un'associazione di vitamina E e lievito inattivato agli stessi dosaggi sopracitati (gruppo ScE). Le diete, formulate in base alle esigenze nutrizionali per polli da carne (37), sono state somministrate in forma sbriciolata *ad libitum*.

Tutti gli animali sono stati macellati tutti al raggiungimento del peso vivo (PV) medio di 2300 g, a 54 giorni di età.

Misurazioni ed analisi

Animali

Il PV è stato registrato al momento dell'accasamento (1 giorno di età). Successivamente, PV, incremento ponderale (IP) e incremento ponderale giornaliero medio (IPGM) di ogni soggetto sono stati valutati a 10, 20, 35 e 54 giorni di età.

Composizione degli alimenti

I mangimi sono stati sottoposti a campionamento ad intervalli settimanali secondo la normativa comunitaria per il controllo ufficiale degli alimenti (42) ed analizzati per la composizione chimico-centesimale. La sostanza secca è stata calcolata secondo il metodo AOAC 934.01 (2000). La proteina grezza è stata determinata misurando l'azoto totale in accordo con il metodo Kjeldahl AOAC 954.01 (1990). I lipidi grezzi e le ceneri grezze sono stati determinati rispettivamente secondo i metodi AOAC 920.39 e 942.05 (38). Il tenore in NDF, ADF e lignina è stato analizzato secondo il metodo proposto da Van Soest et al. (39). Le concentrazioni di calcio e fosforo sono state rispettivamente determinate in accordo con Jushamn et al. (40) e AOAC (41). La quantità di amido è stata analizzata con metodo polarimetrico, in accordo alla ISO 10520:1997.

Composizione chimico-centesimale della carne e TBARS

Alla macellazione gli animali sono stati sottoposti a visita ispettiva. Le carcasse sono state pesate ed è stata calcolata la resa percentuale individuale a caldo. Campioni di muscolo *Pectoralis major*, prelevati a 24 h dalla macellazione, sono stati sottoposti ad analisi della composizione chimico-centesimale (43). In particolare, l'azoto totale è stato determinato con metodo Kjeldahl (metodo 991.15), i lipidi totali sono stati ottenuti mediante metodo gravimetrico (metodo 960.30), mentre le ceneri mediante forno a muffola a 600°C (metodo 923.03); l'umidità, infine, è stata valutata mediante essiccamento di campioni di carne in stufa (125°C per 2h) (metodo 950.46). La determinazione della stabilità ossidativa è stata valutata mediante il metodo TBARS (sostanze reagenti con l'acido tiobarbiturico) in campio-

ni di carne conservati a -80°C per 8 mesi avvolti in fogli di alluminio, secondo quanto descritto da Tarladgis et al. (44), ed espressa come mg di malonaldeide/kg.

Composizione in acidi grassi della carne

Solventi e standard. Cloroformio, metanolo ed esano utilizzati erano di grado analitico e forniti da Merck

& Co. Inc. (Darmstadt, Germania). Le soluzioni standard (PUFA No.1 Marine Source; PUFA No.2 Animal Source) utilizzate per il riconoscimento degli acidi grassi sono stati forniti da Sigma-Aldrich (Milano, Italia).

Estrazione della frazione lipidica. I lipidi totali della carne sono stati estratti seguendo il metodo di Folch (45) a cui sono state apportate alcune modifiche. Il campione (60 g) è stato macinato in mixer e posto in

Tabella 1. Ingredienti e composizione chimica delle diete somministrate durante la sperimentazione.

	PRIMO PERIODO				SECONDO PERIODO			
	C	E	Sc	ScE	C	E	Sc	ScE
Ingredienti (%)								
Granoturco macinato	55,0	55,0	55,0	55,0	60,0	60,0	60,0	60,0
Soia f.e. 46	32,0	32,0	32,0	32,0	25,0	25,0	25,0	25,0
Farinaccio di frumento	4,8425	4,8125	4,6925	4,6625	5,3875	5,3575	5,2375	5,2075
Soia estrusa	-	-	-	-	3,0	3,0	3,0	3,0
Glutine di mais	1,15	1,15	1,15	1,15	1,0	1,0	1,0	1,0
Olio di soia	2,0	2,0	2,0	2,0	1,5	1,5	1,5	1,5
Acidi grassi*	0,1625	0,1625	0,1625	0,1625	0,1625	0,1625	0,1625	0,1625
Acido linoleico coniugato (CLA)	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0
Fosfato bicalcico	1,5	1,5	1,5	1,5	1,25	1,25	1,25	1,25
Calcio carbonato	1,0	1,0	1,0	1,0	0,5	0,5	0,5	0,5
Premiscela minerale-vitaminica**	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
Cloruro di sodio	0,35	0,35	0,35	0,35	0,3	0,3	0,3	0,3
Metionina	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
Lisina	0,15	0,15	0,15	0,15	0,1	0,1	0,1	0,1
Pigmentante	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
Vit. E	0,005	0,020	0,005	0,020	0,005	0,020	0,005	0,020
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	-	-	0,15	0,15	-	-	0,15	0,15
Composizione chimica (% sul tal quale)								
Sostanza secca	91,25	90,95	91,54	91,44	91,32	91,10	91,40	91,10
Proteina grezza	20,25	20,79	20,82	20,89	21,10	20,72	19,95	20,26
Grassi grezzi	4,48	4,89	4,60	5,27	4,46	5,23	4,71	4,95
NDF	16,84	17,02	17,42	16,94	16,74	15,81	14,59	15,11
ADF	3,21	3,45	4,27	3,20	2,98	3,02	2,91	2,95
Lignina	1,10	1,21	1,04	1,09	1,01	1,08	1,12	0,95
Ceneri grezze	5,83	5,27	5,66	5,60	5,77	5,06	5,93	4,98
Amido (%)	37,41	40,22	38,05	39,28	38,88	39,54	38,95	38,04
Calcio	1,00	1,05	1,01	0,98	1,01	0,97	1,03	0,99
Fosforo	0,68	0,68	0,68	0,68	0,62	0,62	0,62	0,62
Lisina	0,43	0,43	0,43	0,43	1,04	1,04	1,04	1,04
Metionina e Cisteina	0,88	0,88	0,88	0,88	0,88	0,88	0,88	0,88
Energia metabolizzabile (Mcal/kg)	3,02	3,02	3,02	3,02	3,08	3,08	3,08	3,08

C= mangime commerciale utilizzato come controllo; E= C con aggiunta di vitamina E; Sc= C con aggiunta di lievito inattivato; ScE= C con aggiunta di un'associazione di vitamina E e lievito inattivato.

* Composizione per kilogrammo di mangime: C18:2 9c,11t, 2.5 g; C18:2 10t, 12c, 2.5 g; C14:0, 0.16 g; C16:0, 0.45 g; C20:3, 0.02 g; C20:5, 0.02 g; C22:6, 0.63 g; altri, 0.36 g.

**Composizione per kilogrammo di mangime: vitamina A, 12,500 U.I. (retinolo); vitamina D3, 3,000 U.I.; vitamina E, 50 mg (tocoferilacetato); vitamina K3, 2 mg; tiamina, 2 mg; riboflavina, 4 mg; piridossina, 1 mg; cianocobalammina, 0.015 mg; acido pantotenico 15 mg; acido folico, 50 mg; biotina, 10 mg; colina, 60 mg; iodio, 3 mg; selenio, 20 mg; ferro, 3 mg; manganese, 12 mg; rame, 1.5 mg; zinco, 5 mg.

una bottiglia tipo soviel da 1000 ml. Dopo aver aggiunto 500 ml di una soluzione cloroformio:metanolo 1:1 (v/v), il campione è stato omogeneizzato con ultraturrax (IKA, Staufen, Germania) per 3 minuti. La bottiglia, chiusa, è stata posta in stufa per 20 min alla temperatura di 60°C, facendo sfiatare dopo i primi 10 min. Sono stati poi aggiunti 250 ml di cloroformio e, dopo aver omogeneizzato per 2 min, la miscela è stata filtrata attraverso filtro Buchner, sfruttando il vuoto creato dalla pompa ad acqua. Il filtrato, una volta raccolto in una beuta codata, è stato trasferito in un imbuto separatore ed addizionato di 200 ml di soluzione acquosa 1M di KCl. Dopo aver agitato per un minuto è stato posto a 4°C per tutta la notte. Il mattino seguente, la fase acquosa e quella organica apparivano ben separate; si è proceduto così al recupero della fase organica (sottostante) in una nuova bottiglia soviel. In quest'ultima sono stati aggiunti 3-4 cucchiaini di sodio solfato anidro per eliminare l'eventuale umidità residua; una volta tappata, la bottiglia è stata posta al buio per almeno due ore. A questo punto la fase organica è stata filtrata su un filtro a pieghe, in un pallone da 500 ml. Dalla fase organica è stato quindi allontanato il solvente mediante un evaporatore rotante sotto vuoto, in un bagno termostato a 40°C.

Transmetilazione del grasso e condizioni cromatografiche per l'analisi degli acidi grassi. Gli esteri metilici degli acidi grassi (FAMES) del grasso totale sono stati ottenuti utilizzando il metodo di Suter et al. (46, 47) ed analizzati mediante gascromatografia capillare, utilizzando uno strumento CP-9003 (Chrompack Middeburg, NL), equipaggiato con rivelatore a ionizzazione di fiamma (FID) e colonna capillare CP-Sil 88 (100 m x 0.25 mm d.i., spessore della fase stazionaria 0,2 µm) e provvisto di iniettore split/splitless. Il flusso del gas di

trasporto, elio, era di 1,6 ml min⁻¹. La temperatura del rivelatore era di 230°C; la temperatura dell'iniettore è stata mantenuta costante a 60°C per 6 minuti e poi è stata aumentata fino a 225°C con un incremento di 20°C min⁻¹. Il programma di temperatura del forno partiva da 55°C; tale temperatura veniva mantenuta per 3 minuti e quindi incrementata di 4°C min⁻¹ fino al raggiungimento di 140°C. Dopo un minuto, con un incremento di 2°C min⁻¹, veniva raggiunta la temperatura di 225°C che rimaneva costante per 30 minuti. L'identificazione dei picchi è stata effettuata mediante confronto con i tempi di ritenzione di standard puri.

Analisi statistica

I dati relativi alle performance ponderali *in vitam* e *post mortem* e i dati relativi alla composizione della carne sono stati sottoposti ad analisi della varianza secondo la procedura GLM del SAS (49) utilizzando la dieta come fattore fisso. Le differenze tra medie sono state analizzate mediante Tukey test. Le differenze sono state dichiarate significative per P<0,05.

Risultati e discussione

Parametri produttivi degli animali

In Tabella 2 è indicata l'evoluzione del PV degli animali dall'inizio della prova fino alla macellazione. Il gruppo ScE ha fatto registrare valori di PV maggiori (P<0,001) rispetto agli altri gruppi sperimentali in tutti gli intervalli di età considerati; l'unica eccezione è stata osservata al termine della sperimentazione (54 gior-

Tabella 2. Andamento del peso vivo (g) degli animali registrato per i quattro gruppi sperimentali (medie stimate ± ES).

Dieta	Età (giorni)				
	1	10	20	35	54
C	42,8 ± 0,20	195,1 ± 4,22 b	485,9 ± 13,60 b	1301,5 ± 33,50 b	2208,6 ± 45,79 b
E	43,5 ± 0,26	177,3 ± 4,24 c	485,1 ± 14,05 b	1345,9 ± 33,15 b	2321,8 ± 45,04 ab
Sc	44,0 ± 0,26	189,2 ± 7,20 bc	442,1 ± 15,84 b	1270,8 ± 33,15 b	2259,5 ± 45,04 b
ScE	43,2 ± 0,26	230,0 ± 7,10 a	540,8 ± 13,82 a	1551,2 ± 33,87 a	2463,6 ± 51,31 a
P	N.S.	<0,001	<0,001	<0,001	<0,01

Valori contrassegnati da lettere diverse nella stessa colonna differiscono statisticamente.

C= mangime commerciale utilizzato come controllo; E= C con aggiunta di vitamina E; Sc= C con aggiunta di lievito inattivato; ScE= C con aggiunta di un'associazione di vitamina E e lievito inattivato.

ni). I valori relativi a IP e IPGM hanno mostrato un andamento simile a quello riscontrato per il PV (Tab. 3). Anche i pesi delle carcasse e la resa percentuale evidenziano valori maggiori per i soggetti appartenenti al gruppo ScE rispetto agli altri gruppi sperimentali. In uno studio pubblicato da Botsoglou nel 2004 (48) si riporta un maggior incremento di peso in soggetti alimentati con una dieta addizionata di 200 mg/kg di tocoferil-acetato rispetto a diete controllo o addizionate di fitoderivati; anche per Guo et al. (50) l'aggiunta di vitamina E nella razione si dimostrerebbe capace di migliorare le performance e garantire una migliore efficienza alimentare della dieta. Falaki et al. (51) hanno dimostrato come l'aggiunta di componenti cellulari derivati da *S. cerevisiae* sia in grado di indurre nel broiler un maggiore IP accompagnato da un minor indice di conversione alimentare. In uno studio condotto da Gao et al. (52), i polli alimentati con estratti di colture cellulari di *S. cerevisiae* hanno mostrato, per tutto il periodo di allevamento, un maggior IP ed un migliore sviluppo dei villi duodenali rispetto ai gruppi controllo.

È ipotizzabile che l'associazione fra lievito inattivato e vitamina E, agendo sia sulla flora microbica intestinale (53) che sullo sviluppo e l'integrità dei villi (54), abbia migliorato la digeribilità e l'assorbimento dei nutrienti a livello intestinale e di conseguenza indotto un incremento dei valori di PV, IP e IPGM.

Composizione chimico-centesimale della carne

Le quattro diete sperimentali non hanno indotto modificazioni nella composizione chimica della carne (Tab. 4). La qualità nutrizionale si è pertanto mantenuta costante in tutti i 4 gruppi di animali con valori compresi entro il range di normalità previsto per la carne di pollo (55).

La determinazione della stabilità ossidativa mediante il metodo TBARs ha permesso di evidenziare un effetto positivo molto marcato della vitamina E, che si è tradotto in una diminuzione ($P < 0,001$) dei valori registrati sia per il gruppo E che per il gruppo ScE (-48% in media). Al contrario, la dieta Sc non ha pro-

Tabella 3. Incremento ponderale (g) giornaliero medio nei diversi gruppi sperimentali (medie stimate ± ES)

Dieta	Intervallo di età (giorni)			
	1-10	10-20	20-35	35-54
C	18,51 ± 0,42 b	22,15 ± 0,67 b	35,96 ± 0,96 b	40,11 ± 0,85 b
E	16,72 ± 0,42 c	22,07 ± 0,70 b	37,21 ± 0,95 b	42,30 ± 0,84 ab
Sc	17,92 ± 0,72 bc	21,85 ± 0,78 b	35,05 ± 0,95 b	41,75 ± 0,83 b
ScE	22,00 ± 0,71 a	26,71 ± 0,68 a	43,08 ± 0,97 a	45,50 ± 0,95 a
P	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001

Valori contrassegnati da lettere diverse nella stessa colonna differiscono statisticamente.

C= mangime commerciale utilizzato come controllo; E= C con aggiunta di vitamina E; Sc= C con aggiunta di lievito inattivato; ScE= C con aggiunta di un'associazione di vitamina E e lievito inattivato.

Tabella 4. Composizione chimico-centesimale (%) e TBARs (mg di malonaldeide/kg) del muscolo *Pectoralis major* nei diversi gruppi sperimentali

Diete	Umidità	Proteine	Grassi	Ceneri	TBARs
C	72,682	23,624	2,534	1,160	0,309 a
E	72,686	23,656	2,494	1,164	0,189 b
Sc	72,678	23,642	2,516	1,164	0,284 a
ScE	72,634	23,608	2,592	1,166	0,154 b
ES	0,126	0,117	0,050	0,004	0,014
P	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	<0,001

Valori contrassegnati da lettere diverse nella stessa colonna differiscono statisticamente.

C= mangime commerciale utilizzato come controllo; E= C con aggiunta di vitamina E; Sc= C con aggiunta di lievito inattivato; ScE= C con aggiunta di un'associazione di vitamina E e lievito inattivato. ES= errore standard

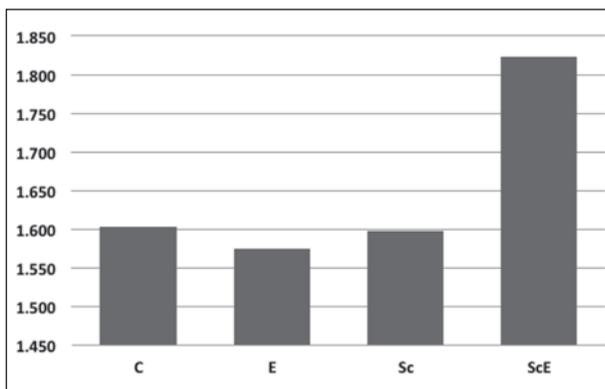


Figura 1. Peso della carcassa rilevato al mattatoio per i soggetti appartenenti ai diversi gruppi sperimentali.

Valori contrassegnati da lettere diverse differiscono statisticamente ($P < 0,001$). C= mangime commerciale utilizzato come controllo; E= C con aggiunta di vitamina E; Sc= C con aggiunta di lievito inattivato; ScE= C con aggiunta di un'associazione di vitamina E e lievito inattivato.

dotto alcuna modificazione di tale parametro. Zhang et al. (26) hanno dimostrato che un'integrazione con parete cellulare di *S. cerevisiae* nella dieta del pollo da carne era in grado di determinare una significativa riduzione dei valori di TBARs nel muscolo, tanto maggiore quanto più lungo era il tempo di stoccaggio. Nel nostro studio la maggiore stabilità ossidativa della carne sarebbe invece da attribuire esclusivamente al potere antiossidante della vitamina E.

Composizione acidica della frazione lipidica totale della carne

La composizione in acidi grassi della frazione lipidica totale estratta dai campioni di carne (*Pectoralis major*) provenienti da polli alimentati con le diverse diete è riportata in Tabella 5.

Dal punto di vista qualitativo non si evidenziano differenze nel profilo acidico tra i campioni. In tutti i casi sono stati identificati ventidue acidi grassi, appartenenti alle categorie dei saturi, monoinsaturi e polinsaturi.

Dal punto di vista quantitativo, la dieta ha influenzato la composizione della frazione acidica, in modo particolare quella della componente degli acidi grassi polinsaturi (PUFA). In tutti i campioni la porzione degli acidi grassi saturi (SFA) costituisce circa il 40% del totale ed è caratterizzata da elevate quantità

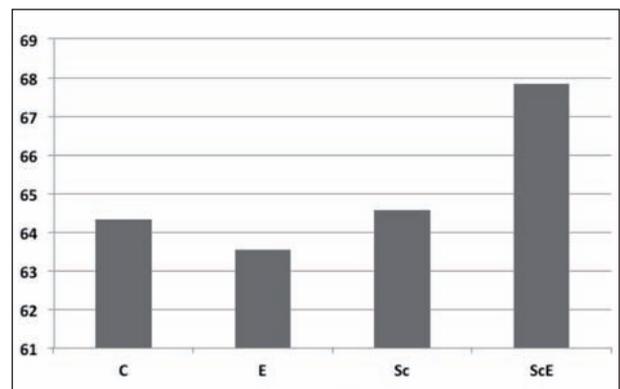


Figura 2. Resa (%) dei soggetti macellati per i diversi gruppi sperimentali.

Valori contrassegnati da lettere diverse differiscono statisticamente ($P < 0,001$). C= mangime commerciale utilizzato come controllo; E= C con aggiunta di vitamina E; Sc= C con aggiunta di lievito inattivato; ScE= C con aggiunta di un'associazione di vitamina E e lievito inattivato.

di acido stearico (C18:0) e di acido palmitico (C16:0). Quest'ultimo risulta l'acido grasso preponderante in tutti i campioni. La componente monoinsaturata degli acidi grassi (MUFA) rappresenta il 27-30% degli acidi grassi totali nei vari campioni ed è costituita prevalentemente da acido oleico (C18:1). Per quanto concerne la frazione dei PUFA, si evidenziano differenze tra i vari campioni in termini di contenuto totale e di contenuto degli isomeri dell'acido linoleico coniugato (CLA). Il gruppo E, come atteso, presenta una quantità totale di PUFA superiore ($P < 0,05$) al gruppo di controllo e al gruppo Sc, ma non diversa da quella del gruppo ScE. Questo lascia ipotizzare che l'integrazione con vitamina E possa avere un effetto positivo sull'accumulo di PUFA nelle carni. Le carni ottenute dal gruppo Sc hanno presentato una quantità di CLA inferiore ($P < 0,001$) a quella dei gruppi C ed E, mentre non sono state registrate differenze rispetto al gruppo ScE. È ipotizzabile che la presenza di *S. cerevisiae* inattivato in ambito intestinale possa avere favorito lo sviluppo di microrganismi in grado di saturare porzioni variabili di acidi grassi di origine alimentare, ma non esistono riferimenti bibliografici sull'argomento. È stato tuttavia riscontrato un analogo andamento, a seguito della somministrazione di diete contenenti il medesimo tipo di lievito, nella composizione acidica della frazione lipidica della carne di coniglio (Pacetti, dati non pubblicati).

Tabella 5. Composizione in acidi grassi (% sul totale degli acidi grassi) del muscolo *Pectoralis major* nei diversi gruppi sperimentali (medie stimate \pm ES)

Acidi Grassi	Diete			
	C	E	Sc	ScE
C14:0	0,8 \pm 0,1	0,7 \pm 0,1	0,7 \pm 0,1	0,7 \pm 0,2
C16:0	28,8 \pm 1,4	25,7 \pm 1,1	28,2 \pm 0,1	27,8 \pm 1,4
C17:0	0,1 \pm 0,1	0,1 \pm 0,1	0,1 \pm 0,1	0,1 \pm 0,1
C18:0	11,8 \pm 1,3	12,9 \pm 0,5	11,8 \pm 0,6	12,0 \pm 0,2
C20:0	0,2 \pm 0,1	0,1 \pm 0,1	0,1 \pm 0,1	0,1 \pm 0,1
TOT SFA	41,6 \pm 1,2	39,6 \pm 1,2	40,9 \pm 0,5	40,7 \pm 1,4
C16:1	2,9 \pm 0,2a	1,7 \pm 0,3b	3,0 \pm 0,3a	2,4 \pm 0,4ab
ISO C16:1	0,2 \pm 0,1	0,3 \pm 0,1	0,4 \pm 0,1	0,3 \pm 0,1
C17:1	tr	tr	0,1 \pm 0,1	0,1 \pm 0,1
C18:1 t	0,4 \pm 0,1	0,4 \pm 0,1	0,4 \pm 0,1	0,3 \pm 0,1
C18:1	23,3 \pm 1,6	24,0 \pm 1,5	25,9 \pm 1,3	24,5 \pm 0,4
C20:1	0,2 \pm 0,1	0,3 \pm 0,1	0,3 \pm 0,1	0,3 \pm 0,1
TOT MUFA	27,1 \pm 1,9	26,8 \pm 1,8	30,0 \pm 1,3	27,9 \pm 0,7
C18:2 ω 6	21,4 \pm 0,2ab	22,9 \pm 0,8a	19,3 \pm 1,2b	20,9 \pm 1,2ab
C18:3 ω 3	1,5 \pm 0,2	1,5 \pm 0,1	1,1 \pm 0,2	1,3 \pm 0,2
C18:2 Δ 9 ^{c,11} (CLA)	1,4 \pm 0,1ab	1,5 \pm 0,1a	1,0 \pm 0,1b	1,2 \pm 0,1b
C18:2 Δ 10 ^{b,12c} (CLA)	0,8 \pm 0,1ab	1,0 \pm 0,1b	0,6 \pm 0,1a	0,8 \pm 0,1ab
C20:2	0,5 \pm 0,1	0,7 \pm 0,1	0,5 \pm 0,2	0,8 \pm 0,3
C20:3 ω 6	0,6 \pm 0,1	0,6 \pm 0,2	0,6 \pm 0,2	0,8 \pm 0,2
C20:4	2,4 \pm 0,4	2,5 \pm 0,2	2,5 \pm 0,5	2,7 \pm 0,7
C20:5 ω 3	0,4 \pm 0,2	0,4 \pm 0,1	0,4 \pm 0,1	0,4 \pm 0,1
C22:4	0,4 \pm 0,2	0,5 \pm 0,1	0,5 \pm 0,1	0,5 \pm 0,1
C22:5 ω 3	0,6 \pm 0,2	0,6 \pm 0,1	0,6 \pm 0,1	0,7 \pm 0,2
C22:6 ω 3	0,8 \pm 0,4	1,2 \pm 0,2	1,0 \pm 0,2	1,2 \pm 0,2
TOT ω 3	2,8 \pm 0,4	3,1 \pm 0,2	2,6 \pm 0,2	2,8 \pm 0,1
TOT ω 6	22,0 \pm 0,3	23,5 \pm 0,9	19,9 \pm 1,3	21,7 \pm 1,2
TOTPUFA	25,3 \pm 0,6b	27,2 \pm 1,1a	22,9 \pm 1,3b	25,3 \pm 1,3ab
TOT CLA	2,2 \pm 0,2A	2,4 \pm 0,1A	1,6 \pm 0,2B	2,0 \pm 0,2AB

Valori contrassegnati da lettere diverse nella stessa riga differiscono statisticamente (A,B: $P < 0.001$; a,b: $P < 0.05$).

C n:m, n= numero degli atomi di carbonio; m= numero dei doppi legami. t, c= trans, cis.

tr= tracce.

C= mangime commerciale utilizzato come controllo; E= C con aggiunta di vitamina E; Sc= C con aggiunta di lievito inattivato; ScE= C con aggiunta di un'associazione di vitamina E e lievito inattivato.

Conclusioni

I risultati ottenuti in questo studio sembrano dimostrare una sostanziale efficacia dell'associazione *S. cerevisiae* inattivato e vitamina E sulle performance produttive del broiler. A parità di valore bromatologico della carne, il gruppo ScE ha infatti mostrato un mi-

glioramento delle performance ponderali rispetto agli altri gruppi sperimentali. L'azione antiossidante della vitamina E ha permesso di ottenere una diminuzione ($P < 0,001$) dei valori di TBARs nelle carni, ad indicare una maggiore stabilità ossidativa, ed un aumento della concentrazione di PUFA. Si può ipotizzare che *S. cerevisiae* sia in grado, direttamente o indirettamente, di

limitare l'accumulo di CLA e che l'associazione con la vitamina E possa limitare tale tipo di effetto. Ulteriori studi si rendono necessari per approfondire le conoscenze relative al meccanismo d'azione del lievito inattivato a livello di ecosistema intestinale e per valutare l'effetto della dieta sulla carne sottoposta a differenti modalità di conservazione e a diversi tempi di stoccaggio.

Ringraziamenti

Questa ricerca è stata condotta nell'ambito del progetto "Made in Italy" MI01_00148, finanziato dal Ministero dello Sviluppo Economico. Si ringraziano C. Cavallucci, E. Cassetta, G. Ceccarani e F. Canalicchio per l'assistenza tecnica e le analisi di laboratorio. L'azienda Agricola S. Nicolò di Carboni A. & S. ha fornito le strutture necessarie all'esecuzione della prova, mentre Doxal Italia e G.I.Ma. S.p.A. hanno collaborato alla formulazione delle diete e alla fornitura degli alimenti. Questa sperimentazione è stata condotta nell'ambito del Dottorato di Ricerca in "Sanità Animale, Produzioni Zootecniche e Sicurezza Alimentare" (Università di Perugia, XXVIII ciclo).

Bibliografia

- Eckles C. H., Williams V. M.. Yeast as a supplementary feed for lactating cows. *J Dairy Sci.* 1925; 8.2:89-93.
- Oyofe B. A., DeLoach J. R., Corrier D. E., Norman J. O., Ziprin R. L., Molenhauer. H. H. Prevention of *Salmonella typhimurium* colonization of broilers with D-mannose. *Poult. Sci* 1989.. 68:1357-1360.
- Gedek B. Interaktion zwischenlebeden Hefezellen und darmpathogen *Escherichia-coli*-keimen. In: *OkosystemDarm, Morphologie, Mikrobiologie, Immunologie*, Müller, J., Ottenjann, R. and Seifert, J. (eds). Springer Verlag, 1989; pp. 135-139.
- Li P., Gatlin III D.M. Evaluation of brewers yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) as a feed supplement for hybrid striped bass (*Moronechrysops*×*M. saxatilis*). *Aquaculture* 2003; 219:681-692.
- Li P., Gatlin III D.M. Evaluation of the prebiotic GroBiotic®- A and brewers yeast as dietary supplements for sub-adult hybrid striped bass (*Moronechrysops*×*M. saxatilis*) challenged in situ with *Mycobacterium marinum*. *Aquaculture* 2005; 248:197-205.
- Czop J.K. Characterization of phagocytic receptor for Beta-glucan on macropahges cultured from jurine bone marrow. *Path. Immunopath. Res.* 1986; 5:286 - 296.
- Crumplén R., D'Amore T., Panchal C.J., Russell G., Stewart G. Industrial uses of yeast: Present and future. *Yeast* (Special issue) 1989; 5:3-9.
- Keyser S. A., McMeniman J. P., Smith D. R., MacDonald J. C., Galyean M. L. Effects of *Saccharomyces cerevisiae subspecies boulardii* CNCM I-1079 on feed intake by healthy beef cattle treated with florfenicol and on health and performance of newly received beef heifers. *J Anim Sci* 2007; 85(5):1264-1273.
- Acuti G., Antonini C., Mughetti L., Olivieri O., Tralbalza-Marinucci M. Effetto di lieviti vivi o inattivati su pH e potenziale ossidoriduttivo ruminale negli ovini. *Large Animal Review* 2008; 4 (Suppl.):146.
- Tralbalza-Marinucci M., Mughetti L., Forte C., Celi R., De Vincenzi S., Olivieri O., Acuti G. Ruminant pH and redox potential as affected by devitalized and live yeasts (*Saccharomyces cerevisiae*) supplementation: an in vitro study. *Ital J AnimSci* 2011; 10(supp. 1):114.
- Lessard M., Dupuis, M., Gagnon, N., Nadeau, E., Matte, J. J., Goulet, J., & Fairbrother, J. M. Administration of *Pediococcus acidilactici* or *Saccharomyces cerevisiae boulardii* modulates development of porcine mucosal immunity and reduces intestinal bacterial translocation after *Escherichia coli* challenge. *J AnimSci* 2009; 87(3):922-934.
- Shen Y. B., Piao X. S., Kim S. W., Wang L., Liu P., Yoon I., Zhen Y. G. Effects of yeast culture supplementation on growth performance, intestinal health, and immune response of nursery pigs. *J. Anim. Sci.* 2009; 87:2614-2624.
- Li J., Li D. F., Xing J. J., Cheng Z. B., & Lai C. H. Effects of β -glucan extracted from *Saccharomyces cerevisiae* on growth performance, and immunological and somatotrophic responses of pigs challenged with *Escherichia coli* lipopolysaccharide. *J AnimSci* 2006; 84(9):2374-2381.
- Medina, B., Girard I. D., Jacotot E., Jullian, V. Effect of a preparation of *Saccharomyces cerevisiae* on microbial profiles and fermentation patterns in the large intestine of horses fed a high fiber or a high starch diet. *J Anim Sci* 2002; 80(10):2600-2609.
- Faubladier C., Chaucheyras-Durand F., da Veiga L., Jullian V. Effect of transportation on fecal bacterial communities and fermentative activities in horses: Impact of *Saccharomyces cerevisiae* CNCM I-1077 supplementation. *J AnimSci* 2013; 91(4): 1736-1744.
- Ortuño J., Cuesta A., Rodríguez A., Esteban M., Meseguer J. Oral administration of yeast, *Saccharomyces cerevisiae*, enhances the cellular innate immune response of gilthead seabream (*Sparusaurata* L.). *Vet imm and immunopath* 2002; 85(1):41-50.
- He S., Zhou Z., Meng K., Zhao H., Yao B., Ringø E., Yoon, I. Effects of dietary antibiotic growth promoter and *Saccharomyces cerevisiae* fermentation product on production, intestinal bacterial community, and nonspecific immunity of hybrid tilapia (*Oreochromis niloticus* female× *Oreochromis aureus* male). *J AnimSci* 2011; 89(1):84-92.
- Hoseinifar S. H., Mirvaghefi A., Merrifield D. L. The effects of dietary inactive brewer's yeast *Saccharomyces cerevisiae* varellosoideus on the growth, physiological responses and gut microbiota of juvenile beluga (*Husohuso*). *Aqua-*

- culture 2011; 318(1):90-94.
19. Abudabos A. M., Yehia H. M. Effect of dietary mannan oligosaccharide from *Saccharomyces cerevisiae* on live performance of broilers under *Clostridium perfringens* challenge. Italian J AnimSci 2013; 12(2):38.
 20. Paryad A., Mahmoudi M. Effect of different levels of supplemental yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) on performance, blood constituents and carcass characteristics of broiler chicks. Afr. J. Agric. Res 2008; 3(12):836-842.
 21. Baurhoo B., Phillip L., Ruiz-Feria C. A. Effects of purified lignin and mannan oligosaccharides on intestinal integrity and microbial populations in the ceca and litter of broiler chickens. Poultry Sci 2007; 86(6):1070-1078.
 22. Gao J., Zhang H. J., Yu S. H., Wu S. G., Yoon I., Quigley J., Gao Y. P., Qi G. H. Effects of yeast culture in broiler diets on performance and immunomodulatory functions. Poultry Sci. 2008; 87:1377-1384.
 23. Brümmer M., Jansen van Rensburg C., Moran C. A. *Saccharomyces cerevisiae* cell wall products: the effects on gut morphology and performance of broiler chickens. South African J AnimSci 2010; 40(1):14.
 24. Kim G. B., Seo Y. M., Kim C. H., Paik I. K. Effect of dietary prebiotic supplementation on the performance, intestinal microflora, and immune response of broilers. Poultry Sci 2011; 90(1):75-82.
 25. Onifade, A. A., Odunsi A. A., Babatunde G. M., Olorede B. R., Muma E. Comparison of the supplemental effects of *Saccharomyces cerevisiae* and antibiotics in low-protein and high-fiber diets fed to broiler chicken. Arch. Anim. Nutr 1999; 52:29-39.
 26. Zhang A.W., Lee B.D., Lee S.K., Lee K.W., An G.H., Song K.B., Lee C.H. Effects of yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) cell components on growth performance, meat quality, and ileal mucosa development of broiler chicks. Poultry Sci 2005; 84:1015-1021.
 27. Ferenčík M., Kotulová D., Masler L., Bergendi L., Šandula J., Štefanovič J. Modulatory effect of glucans and biochemical activities of guinea-pig macrophages. Methods Find. Exp. Clin. Pharmacol. 1986; 8:163-166.
 28. Patchen M.J., D'Alesandro M.M., Brook I., Blakely W.F., Mac Vittie T. J. Glucan: mechanism involves in its radio-protective effect. J. Leukoc. Biol. 1987; 42:95-105.
 29. Real A., Güenechea G., Bueren J.A., Maganto G. Radio-protection mediated by the haemopoietic stimulation conferred by AM5: a protein associated polysaccharide. Int. J. Radiat. Biol. 1992; 62:65-72.
 30. Hofer M., Pospíšil M., Viklická Š., Pípalová I., Holá J., Netíková J., Šandula J. Effect of postirradiation carboxymethylglucan administration in mice. Int. J. Immunopharmacol. 1995; 17:167-174
 31. Liu F., Ooi V.E.C., Chang S.T. Free radical scavenging activities of mushroom polysaccharide extracts. Life Sci. 1997; 60:763-771.
 32. Babincová M., Machová E., Kogan G. Carboxymethylated glucan inhibits lipid peroxidation in liposomes. Z. Naturforsch. 1999; 54:1084-1088
 33. Tsiapali E., Whaley S., Kalbfleisch J., Ensley H., Browder W., Williams D. Glucans and related natural polymers exhibit weak solution free radical scavenging activity, but stimulate free radical activity in a murine macrophage cell line. Free Radic. Biol. Med. 2001; 30:393-402
 34. Karaoglu M., Durdag H. The influence of dietary probiotic (*Saccharomyces cerevisiae*) supplementation and different slaughter age on the performance, slaughter and carcass properties of broilers. Int. J. of Poultry Sc. 2005; 4(5):309-316.
 35. European Directive 72/199/CEE. Community methods of analysis for the official control of feeding stuffs. L 209., 08/07/1999, pp 23-27.
 36. Aviagen, 2009. "Broiler Management Manual"
 37. Larbier, M., and B. Leclercq. Nutrition et alimentation des volailles. 1992 INRA Edition Paris
 38. AOAC, 1990. Official Method of Analysis, 15th ed. Association of Official Analytical Chemists Inc., Arlington, VA, USA.
 39. Van Soest, P.J., J.B. Robertson, and B.A. Lewis. Methods for dietary fiber, neutral-detergent fiber and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. J. Dairy Sci. 1991; 74:3583-3597.
 40. Julshamn, K., A. Maage, H. C. Wallin. Determination of magnesium and calcium in foods by atomic absorption spectrometry after microwave digestion: NKML collaborative study. J. AOAC Int. 1998; 81:1202-1208.
 41. AOAC, 1996. Official Methods of Analysis, 16th ed. Association of Official Analytical Chemists Inc., Arlington, VA, USA.
 42. Regolamento (CE) N. 152/2009 della Commissione del 27 gennaio 2009
 43. AOAC, 2000. Official Method of Analysis. 17th ed. Association of Official Analytical Chemists Inc., USA.
 44. Tarladgis B. G., Watts B. M., Younathan M. T., Dugan Jr L. A distillation method for the quantitative determination of malonaldehyde in rancid foods. J. Am. Oil Chem. Soc. 1960; 37(1):44-48.
 45. Folch J, Lees M, Sloane-Stanley GH. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. Journal of Biological Chemistry 1957; 226: 497-509.)
 46. Suter, B., Grob, K., Pacciarelli, B. Determination of fat content and fatty acid composition through 1-min transesterification in the food sample: principles. 1997a, Z. Lebensm. Unters. Forsch. A, 204, 252-258.
 47. Suter, B., Grob, K., Pacciarelli, B., Novoselac, A. Determination of Fat Content and Fatty Acid Composition through 1-min Transesterification in the Food Sample, 1997b, Solubilization of the Fat, Results . Mitt GebieteLebensm. Hyg. 88, 259-276.
 48. Botsoglou N. A., Christaki E., Florou-Paneri P., Giannenas I., Papageorgiou G., Spais A. B. The effect of a mixture of herbal essential oils or α -tocopheryl acetate on performance parameters and oxidation of body lipid in broilers. S. Afr. J. Anim. Sci. 2004; 34:52-61.
 49. SAS, 2001. Statistical Software and User's Guide, Version

- 8.2. SAS Inst., Inc., Cary, NC, USA.
50. Guo Y., Tang Q., Yuan J., Jiang Z. Effects of supplementation with vitamin E on the performance and the tissue peroxidation of broiler chicks and the stability of thigh meat against oxidative deterioration. *Anim Feed Sci Technol* 2001; 89(3):165-173.
51. Falaki M., Shargh M. S., Dastar B., Zerehdaran S., Khomairi M. The Investigation of Intestinal Microflora and Growth Response of Young Broilers Given Feed Supplemented with Different Levels of Probiotic and Prebiotic. *J. of An. and Vet. Adv.* 2011; 10(3):385-390.
52. Gao J., Zhang H. J., Wu S. G., Yu S. H., Yoon I., Moore D., Qi, G. H. Effect of *Saccharomyces cerevisiae* fermentation product on immune functions of broilers challenged with *Eimeria tenella*. *Poultry sci* 2009; 88(10):2141-2151.
53. Kim J. S., Ingale S. L., Kim Y. W., Kim K. H., Sen S., Ryu M. H., Chae B. J. Effect of supplementation of multi microbe probiotic product on growth performance, apparent digestibility, cecal microbiota and small intestinal morphology of broilers. *J. Anim Physiol. Anim. Nutr.* 2012; 96(4):618-626.
54. Murakami A. E., Sakamoto M. I., Natali M. R. M., Souza L. M. G., Franco J. R. G. Supplementation of glutamine and vitamin E on the morphometry of the intestinal mucosa in broiler chickens. *Poultry sci.* 2007; 86(3):488-495.
55. INRAN. Tabelle di composizione degli alimenti. Pollo, petto crudo. www.inran.it
56. Qiao M., Fletcher D. L., Northcutt J. K., Smith D. P. The relationship between raw broiler breast meat color and composition. *Poultry Sci*, 2002; 81(3):422-427.

Correspondence:

Dr.ssa Debora Pacetti

Dipartimento di Scienze Agrarie, Alimentari e Ambientali,
Università Politecnica delle Marche,

Via Brecce Bianche, 60131 Ancona, Italy

Tel : +39 071 2204307

Fax: + 39 071 2204980

E mail: d.pacetti@univpm.it