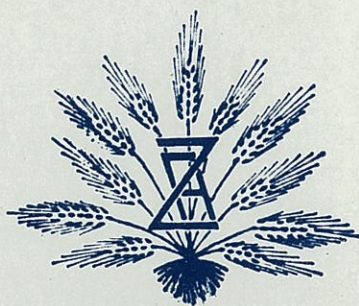


# QUADERNI ASSALZOO

ASPETTI VITAMINICI DELLA NUTRIZIONE ANIMALE:

LA COLINA NELLA SPECIE BOVINA

GIANFRANCO PIVA



ASSOCIAZIONE NAZIONALE TRA I PRODUTTORI DI ALIMENTI ZOOTECHNICI

ASPETTI VITAMINICI DELLA NUTRIZIONE ANIMALE:

LA COLINA NELLA SPECIE BOVINA

GIANFRANCO PIVA

La colina è una molecola, normale costituente degli alimenti, che spesso viene classificata fra le vitamine sebbene per definizione non lo sia.

Basti ricordare la classica definizione del Coppo secondo il quale le "vitamine sono quelle sostanze che hanno nell'organismo di alcune specie animali fondamentale e non sostituibile azione regolatrice e stimolatrice delle funzioni vitali, riproduzione compresa, cosicchè in loro difetto si dichiara, prima o poi, un netto stato morboso. Queste sostanze debbono essere assunte dall'organismo già preformate, più o meno perfettamente; sono veicolate dagli alimenti" (1).

Secondo la definizione su riportata, la colina non può essere classificata fra le vitamine in senso stretto in quanto può essere sintetizzata, di norma, in quantità sufficiente nell'organismo animale. Tuttavia è invalsa l'abitudine di classificarla tra i fattori accessori della dieta per i quali è stata supposta una funzione vitaminica.

L'importanza dietetica della colina venne scoperta nel 1932 da Best (2), successivamente ne sono state precisate le funzioni (3).

La colina come tale si presenta, a temperatura ambiente, in forma liquida, con aspetto sciropposo, incolore, solubile in acqua.

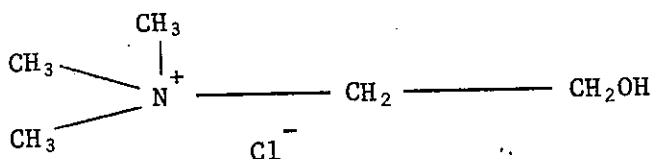
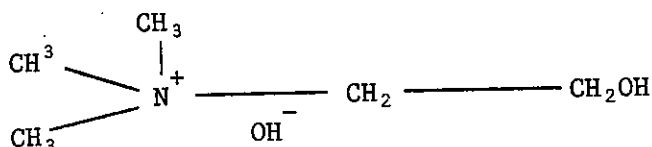
La soluzione ha reazione basica. E' stabile a freddo, ma riscaldata si decompone sviluppando trimetilamina dal caratteristico odore disgustoso.

All'aria assorbe anidride carbonica formando un carbonato cristallino. Più stabili i sali come il tartrato acido ed il cloruro. Quest'ultimo è una sostanza

za bianca molto igroscopica, deliquescente, amara, solubile in acqua ed alcool.

Tabella n. 1

Struttura della colina (P.M. 121,1)



La colina è abbastanza diffusa, la fonte più ricca è il tuorlo d'uovo che arriva a contenerne fino a 1.700 mg/100 g.

Fra gli alimenti di interesse zootecnico particolarmente dotati risultano i lieviti ed i residui da processi fermentativi, le farine di origine animale, le farine di estrazione dei semi oleaginosi, il germe di frumento. Più modesti i tenori riscontrabili nei cereali (tabella n. 2) (4).

La colina è costituente molecolare delle lecitine, tanto è vero che si può ottenere per idrolisi acida da queste (le lecitine sono delle fosfotidil-coline).

Tabella n. 2

Tenore in colina in alcuni alimenti  
mg/Kg

- Frumento	800
- Mais	500
- Orzo	1000
- Crusca di frumento	1100
- Distillers solubili di mais	4800
- Farina di estrazione di arachide	2000
- Farina di estrazione di semi di lino	1200
- Farina di estrazione di soia	2700
- Farina di estrazione di semi di girasole	2900
- Lieviti	3850
- Farina di carne 50%	1900
- Farina di pesce 65%	3000

Le lecitine sono dei glicerofosfatidi, in essi la colina esterifica uno degli idrossili dell'acido fosforico (tabella n. 3). Gli acidi grassi legati in posizione alfa o beta della glicerina sono gli stessi dei grassi stearico, palmitico ed oleico. Le lecitine (che si formano nella parete intestinale a seguito della fosforilazione dei grassi assorbiti) rappresentano un mezzo di trasporto dei grassi nell'organismo.

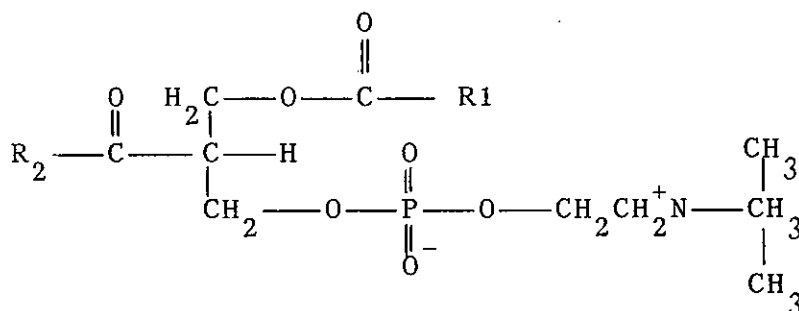
La colina, assieme alla colamina, è parte integrante dei "plasmogeni"; anche uno sfingolipide contiene la colina: la sfingomielina.

La colina si trova inoltre esterificata nelle terminazioni nervose come acetilcolina (tabella n. 3) e libera nel fegato. Sull'importanza biologica dei fosfolipidi ai quali appartengono i glicerofosfatidi ci limitiamo a ricordare che, contrariamente ai trigliceridi che sono dei lipidi di riserva, questi sono dei lipidi strutturali in quanto componenti di quasi tutte le

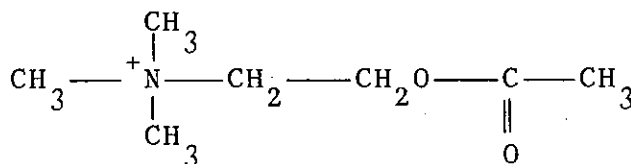
strutture biologiche. Sono costituenti costanti del protoplasma, dello strato periferico del citoplasma, delle membrane cellulari ed in particolare di quelle dei mitocondri. Gli enzimi della catena respiratoria e della sintesi dell'A.T.P. (la moneta di scambio energetico dell'organismo) sono localizzati nei mitocondri.

Tabella n. 3

Fosfatidil colina



Acetil colina



I fosfolipidi, unitamente ai galattolipidi, sono costituenti fondamentali della struttura dei nervi e soprattutto delle guaine. Formano membrane idrofile ed idrorepellenti e strati elettricamente isolanti. La guaina mielinica che avvolge in genere le lunghe fibre nervose è formata da fosfatidi e da colesterolo, ed ha una specifica funzione isolante.

La colina partecipa, sotto forma di acetil-colina, che deriva dalla colina e dall'acetil-CoA, alla trasmissione dell'impulso nervoso a livello di sinapsi e di placca terminale.

Una delle ipotesi del meccanismo di trasmissione fa riferimento alla liberazione, a seguito dello stimolo elettrico, dell'acetilcolina legata ad una proteina come elemento di riserva. Questa, libera, modifica le permeabilità al sodio delle strutture proteiche delle fibre nervose. Lo stimolo è brevissimo in quanto la colinesterasi idrolizza rapidamente l'acetil-colina (50 molecole al 1/1000 al secondo per molecola di enzima).

Il blocco dell'azione di questo enzima esercitata da alcuni insetticidi fosfororganici determina l'arresto della trasmissione dell'impulso nervoso e la conseguente paralisi.

La colina è quindi componente strutturale fondamentale di composti biologici essenziali per la vita animale e per la cellula vivente in genere.

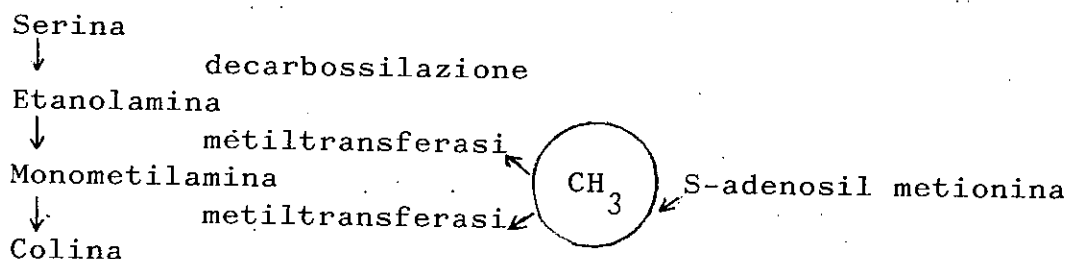
La colina si trova libera nel tessuto epatico in quanto deriva dalla scissione delle lecitine a colina, acido glicerofosforico ed acidi grassi ad opera di una acilfosfatasi.

L'organismo animale è in grado di sintetizzare rapidamente la colina a partire dall'etanolamina. Lo ha dimostrato fin dal 1946 Du Vigneaud (5) con brillanti studi con prodotti marcati nel ratto (tabella n. 4). Questo processo avviene nei microsomi epatici per metilazione della fosfoetidil etanolamina. I gruppi metilici provengono dalla S-adenosil-metionina, e due metiltransferasi sono implicate nel processo (6).



L'etanolamina (colamina) deriva dalla decarbossilazione della serina. La disponibilità del monometilamina è il fattore limitante la sintesi.

Tabella n. 4  
Sintesi della colina nell'organismo superiore



Nel fegato la colina esplica una delle sue funzioni più caratteristiche: donatore di gruppi metilici.

Fino al 1950 si era creduto che l'ingestione di sostanze contenenti gruppi metilici "preformati" fosse essenziale per la crescita degli animali. Solo successivamente è stato dimostrato che gli animali superiori, i microrganismi e le piante sono in grado di sintetizzare il gruppo metilico della metionina a partire anche da composti semplici ad un solo atomo di carbonio. Si tratta però di una via minore negli animali a diete normali, in presenza di omocisteina, di acido folico e di vitamina B<sub>12</sub>. La dimostrazione è stata data nel fegato del ratto.

Il trasferimento dei gruppi metilici va sotto il nome di transmetillazione. Molti sono i composti che possono essere utilizzati dagli animali quale fonte di gruppi metilici: la colina; la betaina (presente negli



animali e nelle piante, abbondante nel melasso di bieto la); la dimetil- $\beta$ -propiotetina (presente in alcune al ghe); la S-metil-metionina (presente in alcune piante) ed alcuni composti di sintesi come la metiletiletina, la dimetiltetina e la monoetilcolina.

Da questi composti, in presenza di omocisteina, si forma rapidamente metionina in quanto contengono gruppi metilici labili.

Il processo di transmetilazione prevede la sintesi della metionina passando dalla omocisteina (tabelle nn. 5 e 6). Ma è stato dimostrato un processo di transmetilazione diretto fra colina e metionina anche in assenza alimentare di omocisteina. Nei tessuti si è riscontrato un trasferimento diretto dei metili marcati della colina in sostituzione dei metili della metionina già in essere.

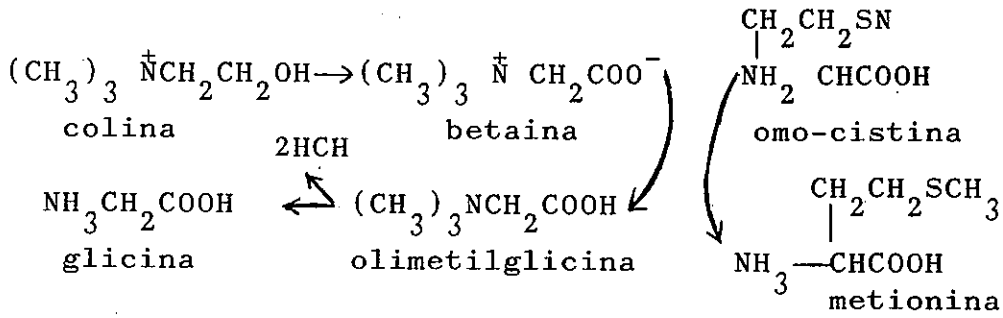
Nel processo classico la colina non donerebbe i gruppi metilici direttamente alla omocisteina, ma prima verrebbe trasformata, con l'intervento di una colina ossidasi, ad aldeide betainica e poi per azione di una deidrogenasi a betaina.

Il fegato dei mammiferi possiede il sistema enzimatico betaina-omocisteina transmetilasi che consente il processo di metilazione della omocisteina a metionina con liberazione di dimetilglicina e di glicina.

La metionina come è noto è un aminoacido essenziale ed, oltre a specifiche funzioni strutturali quale componente delle proteine, svolge alcune funzioni caratteristiche a livello delle cellule epatiche che si concretizzano in una azione antitossica ed antisteatotica. Esercita, in sintesi, una generica azione epatoprotettiva alla quale si affianca anche quella nefroprotet

Tabella n. 5

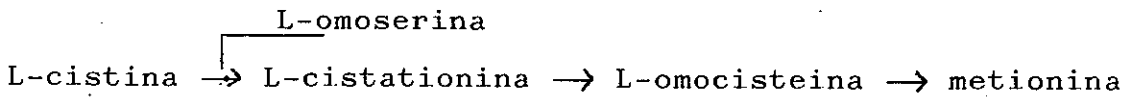
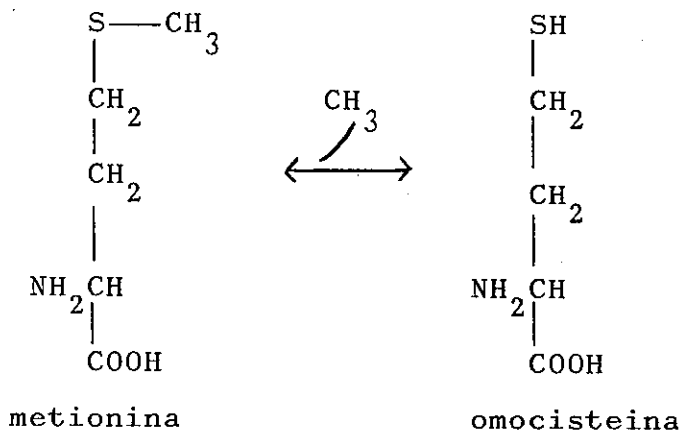
Transmetilazione



Donatori di gruppi metilici

- |                      |                  |
|----------------------|------------------|
| colina               | betaina          |
| dimetilβpropiotetina | 5 metilmetionina |
| metiletiletina       | dimetiltetina    |
| monoetilcolina       |                  |

Tabella n. 6



tiva. Anche la colina esercita azione antisteatosica. L'azione antisteatosica della colina è particolarmente importante, abbiamo avuto modo di riverificarlo mettendo a confronto ratti con diete steatosiche al 30% di grassi (7) in presenza (0,15% s.s.) od in assenza di colina. Nel primo caso dopo 20 giorni il peso del fegato, per 100 g di peso corporeo, era di g 6,50 nel secondo caso di g 7,80 per 100 g; ma in assenza di colina il tenore in grassi del fegato era di circa il 18%, mentre in presenza di colina era attorno al 4%.

#### Sintomi di deficienza di colina

Praticamente in tutte le specie una carenza di colina determina delle turbe funzionali.

Gli effetti più gravi sono legati alla anomala formazione dei fosfolipidi e ne deriva: fragilità delle membrane (emorragie renali), turbe nervose, anomalie nel trasporto dei trigliceridi e del colesterolo con accumulo nel fegato (8). Il fegato grasso è il sintomo più costante della carenza di colina. La steatosi epatica può evolvere nella cirrosi. Per la capacità della colina di prevenire il fegato grasso e di farlo regredire è da considerarsi il "fattore lipotropo" più attivo (9). La betaina, ad esempio, pur essendo un ottimo donatore di gruppi metilici è del tutto incapace di prevenire e curare la steatosi epatica. Mentre l'arsenocolina e la sulfocolina hanno le azioni epatoprotettive ed antiemorragiche della colina, ma non consentono la sintesi di metionina per transmetilazione (9).

Dall'insieme di queste considerazioni emerge quindi una concreta esigenza di fabbisogno organico di colina. Fabbisogno organico che può essere soddisfatto in parte da processi di sintesi intraorganica, in parte dall'apporto realizzato normalmente dagli alimenti in

condizioni naturali di vita.

Nell'allevamento intensivo in condizioni nelle quali i fabbisogni organici di colina come tale o di gruppi metilici si esasperano, la fame di colina va soddisfatta in via diretta. Anche perchè, probabilmente, non sarebbe biologicamente possibile ed economicamente conveniente, stimolare la sintesi organica di colina in misura adeguata a partire da opportuni precursori alimentari.

Un arricchimento della razione in colina può essere realizzato sia ricorrendo ad alimenti particolarmente dotati, sia ad integrazioni specifiche.

La colina normalmente commercializzata è un prodotto di sintesi ottenuto a partire da trimetilamina e etilenossido o bromuro od ossido di etilene (tabella n. 7). Il cloruro di colina si può preparare da trimetilamina e cloridrina etilenica direttamente o salificando la colina con acido cloridrico.

La colina viene commercializzata come soluzione acquosa o in polvere, dispersa su apposito substrato, o come sale (tabella n. 8).

#### Colina cloruro liquida

Commercialmente è sotto forma di cloruro al 70 od al 75%. È importante che si presenti limpida, con un pH compreso fra il 6 ed il 7. Valori più bassi indicano un eccesso di acido cloridrico, più elevati un incipiente processo di degradazione. Il tenore in HCl libero non deve essere superiore allo 0,02%. Deve essere assente l'odore di trimetilamina.

Tabella n. 7

Sintesi industriali della colina cloruro

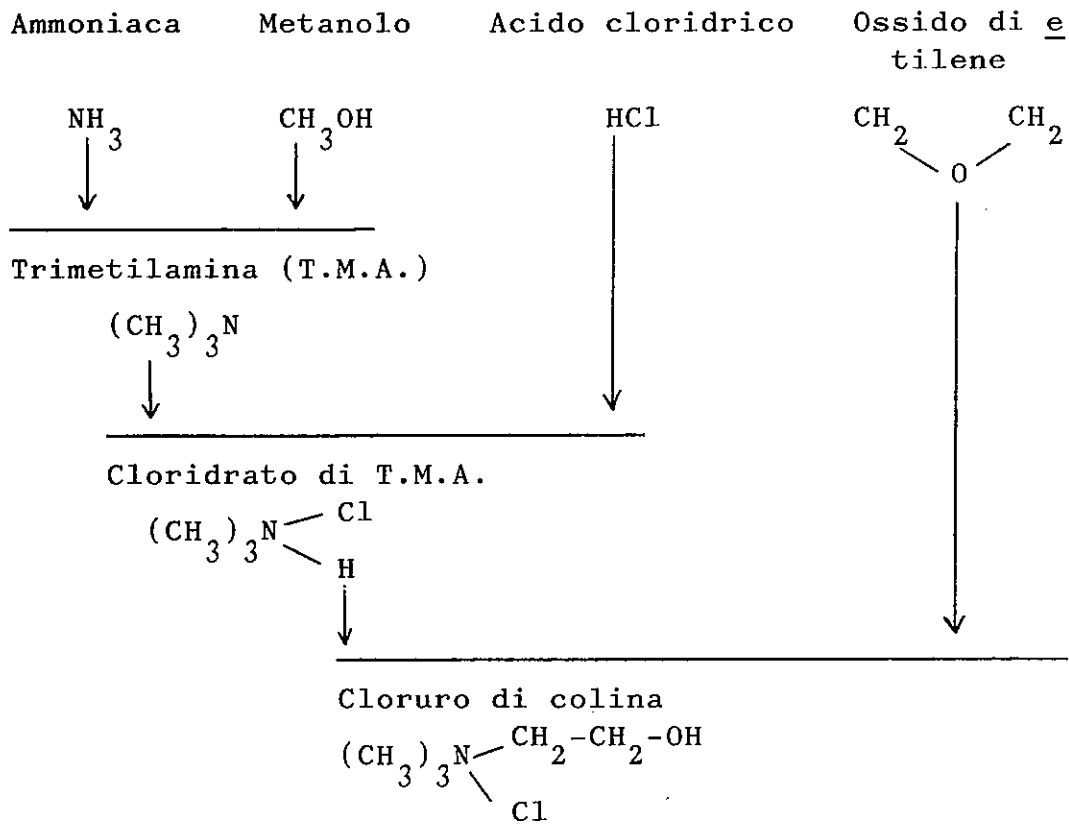


Tabella n. 8  
Caratteristiche commerciali di preparati di colina cloruro

	Soluzione		Supporto	
	70%	75%	vegetale	minerale
Tipo	70%	75%	50%	50%
Titolo min.	70%	75%	50%	50%
Aspetto	soluzione limpida	soluzione limpida	polvere scorrevole	polvere scorrevole
Colore Apha max	20	20	-	-
Odore	leggero caratt.	leggero caratt.	leggero caratt.	nessuno
Stabilità a t° ambiente	buona	buona	buona	buona
pH	6-7	6-7	-	-
T.M.A. HCl max	0,02	0,02	0,02	0,02
Umidità max	-	-	2,00%	15,00%

Colina cloruro polvere su supporto

Colina cloruro dispersa su supporto vegetale (tutolo mais macinato, marco mele, marco pere) o minerale (silicato). Il titolo in colina non deve essere inferiore al 50%. Anche in questo caso il tenore in HCl non deve superare lo 0,02%. Nel caso del supporto vegetale l'umidità deve essere al massimo il 2%. Nel caso del supporto minerale non deve superare il 16%.

Colina bitartrato

Si presenta come una polvere bianca cristallina. In acqua da un pH di 3,5 ed è praticamente priva di ceneri. Il titolo è pari al 99% (tabella n. 9).

La colina è caratterizzata da una notevole stabilità nei preparati commerciali: integratori. Anzi, secondo una recente indagine di Bellomonte (10), è una delle "vitamine" più stabili.

Dopo 180 giorni la riduzione del tenore analiticamente determinabile di colina è stato, nel peggiore dei casi, inferiore al 2% (tabella n. 10).

Tabella n. 9

**Colina bitartrato**

Titolo m. . . . .	99%
Aspetto	polvere cristallina
Colore	bianco
Stabilità	buona
pH (10% sol. acquosa)	3,5
Ceneri max	0,1%
Silice (se aggiunta)	1%



Tabella n. 10

Andamento nel tempo del tenore in colina in un integratore per polli (Bellomonte *et al.* 1983) (valore dichiarato 200.000 mg/Kg)

Tempo gg	Valore riscontrato ppm
0	193.800 $\pm$ 0
30	193.085 $\pm$ 2.045
60	191.725 $\pm$ 2.047
90	191.725 $\pm$ 2.047
120	188.995 $\pm$ 682
150	188.313 $\pm$ 2.729
180	190.360 $\pm$ 2.047

Una particolare attenzione va posta alla interferenza dei preparati commerciali di colina nella stabilità delle altre vitamine.

Infatti la presenza di impurità come betaina e trimetilamina determinerebbe una perdita di attività della vit. K e della vit. A (tabella n. 11).

La trimetilamina agirebbe da base forte ed in tacccherebbe l'involucro protettivo delle vitamine.

Secondo Marchetti (11) anche il supporto per la preparazione della colina polvere potrebbe contenere delle impurità capaci di danneggiare alcune vitamine; può essere il caso delle buccette d'uva.

#### Colina nei bovini

Del tutto diverso il problema del fabbisogno in colina nei vitelli rispetto a quello degli animali a ruminazione funzionante.

### Vitelli.

Nel vitello allattante direttamente sotto la madre l'apporto realizzato con il colostro, nei primi giorni di vita, è essenziale al fine di garantire una adeguata disponibilità di gruppi metilici. Il colostro è particolarmente ricco in colina (0,69 mg/ml), assai più del latte (0,14 mg/ml) (12, 13).

La colina sembra essere particolarmente importante nel vitello nei primissimi giorni di vita almeno secondo le classiche ricerche di Johnson et al. (14).

Tabella n. 11

Effetto della qualità della colina sulla stabilità della vit. A e della vit. K negli integratori (Bellomonte et. al., 1983)

Colina:	Buona qualità		Cattiva qualità	
	Vit. A	Vit. K	Vit. A	Vit. K
gg. conservaz.	perdite %		perdite %	
60	17	8	20	23
120	20	10	23	56
180	24	12	63	77

Infatti razioni a basso livello di caseina, prive di colina, in vitelli di due giorni di vita evidenziarono già dopo una settimana una sintomatologia particolarmente grave: inappetenza, debolezza, incapacità ad alzarsi ed a stare in piedi, incoordinamento dei movimenti, irregolarità cardiaca e respiratoria.

La sintomatologia evolve rapidamente fino alla morte degli animali nel caso non si intervenga con

una adeguata terapia, per intramuscolo od in vena a base di colina.

All'esame anatomo-patologico gli animali morti per la situazione carenziale denunciano grave degenerazione albuminoide dei reni, con emorragie e degenerazione grassa del fegato.

E' sorprendente il fatto che la sindrome carenziale si manifesti con notevole tempestività (6-8 giorni) nei soggetti appena nati. In soggetti di oltre due settimane il problema non si pone in modo così evidente.

Nei soggetti in fase di allevamento od all'in grasso con razioni a base di latte, un adeguato apporto di colina gioca un ruolo essenziale al fine di garantire, oltre che una ottima funzionalità epatica, una buona utilizzazione dell'elevato livello dei lipidi alimentari. Secondo A.E.C. il fabbisogno in colina per i vitelli è pari a 550 p.p.m. analogo è il dato proposto da N.R.C., 500 mg/Kg (4).

#### Ruminanti adulti

La principale fonte di colina per i ruminanti adulti è rappresentata dalla fosfatidilcolina componente normale delle membrane vegetali.

I microrganismi presenti nel rumine idrolizzano i fosfolipidi e liberano la colina (15). La colina tende a scomparire velocemente dalla frazione solubile e Broad et al. (16) ipotizzarono che almeno in parte venisse rapidamente assorbita dalla parete ruminale.

In realtà i microrganismi del rumine possono convertire la colina in trimetilamina e questa essere

degradata a metano.

La metilamina è il maggior componente della frazione solubile dell'azoto presente nel rumine (17) e può derivare oltre che dalla colina anche dai gruppi mercaptometilici della metionina.

Alla scomparsa della colina dal contenuto ruminale contribuisce anche il fatto che alcuni protozoi (Entodinium caudatum) utilizzano rapidamente la colina libera per la sintesi della fosfocolina e della fosfati dilcolina (18).

I protozoi quindi rappresenterebbero un interessante mezzo per il trasporto della colina a valle del rumine (19).

La colina, stimola in modo significativo l'attività della microflora del rumine. Si ha infatti un aumento del numero dei microrganismi, in vivo ed in vitro, quasi ad indicazione di un fabbisogno di colina o di gruppi metilici da parte di alcune specie microbiche. In presenza di supplementi di colina si ha un significativo aumento della produzione di acidi grassi volatili e di anidride carbonica (20), senza che i rapporti fra gli stessi acidi siano modificati.

Questa constatazione conferma l'attività di stimolo della molecola all'esame sull'attività generica della microflora dato che dalla degradazione, in ambiente anaerobico, della colina da parte dei batteri ruminanti, derivano acetato ed etanolo (21) oltre, evidentemente, a trimetilamina e metano come già detto.

Ricerche effettuate con prodotti marcati indicano che la produzione del metano a partire dalla trimetilamina non avverrebbe per riduzione della CO<sub>2</sub>, secondo lo schema classico, ma direttamente (22) secondo

do una via che interesserebbe anche i metilmercapto gruppi della metionina.

La velocità di formazione dei diversi metaboliti è diversa e in esuberanza alimentare di colina si ha un accumulo per saturazione del sistema. Ne deriverebbe una certa possibile protezione operata dalla colina, ad esempio, nei riguardi della degradazione della metionina.

I gruppi metilici liberati sono in ogni caso essenziali ai processi di sintesi intraorganica.

Nei vitelloni con razioni ad alta concentrazione energetica per la presenza di grassi o nelle vacche ad altissima produzione la disponibilità organica di questa molecola è fondamentale per un corretto metabolismo dei grassi.

La sindrome della "vacca grassa" è uno dei problemi che deve affrontare l'allevatore di animali ad alto livello produttivo, specie se a stabulazione libera ed alimentati con la tecnica dell'unifeed.

Questo fenomeno tende a manifestarsi nella seconda fase della lattazione con razioni ad esuberante apporto energetico e colpisce gli animali più produttivi e più voraci. Di norma si accentua con l'asciutta e si evidenzia in tutta la gravità con l'inizio della nuova lattazione.

Oltre alle manifestazioni più gravi che possono portare a collassi irreversibili, più frequenti sono le manifestazioni di acetonemia, con tutte le conseguenze che ne derivano (caduta dell'appetito, scarsa produzione, turbe nervose, ecc.).

Dal punto di vista clinico vi è sistematicamente un fegato steatosico con anomalie evidenti a carico dei più comuni parametri ematici indicatori della funzionalità epatica (GOT,  $\gamma$ GT), dei trigliceridi e del colesterolo.

Vi è, inoltre, una stretta correlazione fra integrità epatica ed infertilità. Al fegato grasso si affiancano ritardo nella manifestazione dei calori dopo il parto di oltre 20 giorni ed aumento del numero di interventi fecondativi per animale gravido, da 1,6 ad oltre 2,4 (tabella n. 12) (23).

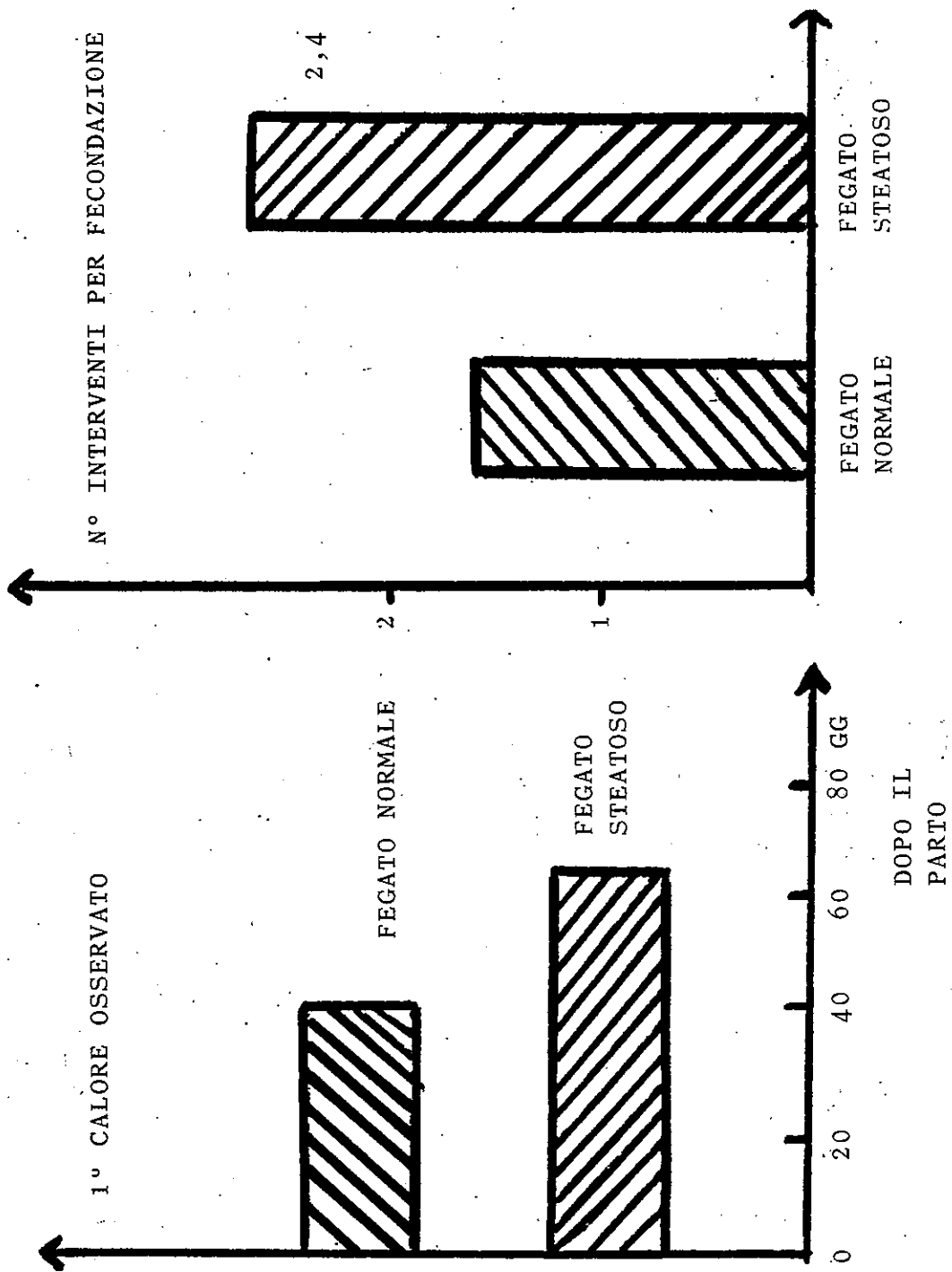
La steosi epatica è una tipica sindrome da carenza organica di colina.

La caduta del tenore lipidico del latte ("Low fat syndrome") è un'altra sindrome che colpisce spesso gli animali fortemente produttivi: il fenomeno è da ricondurre più che ad una insufficiente disponibilità organica di acetato a partenza ruminale, ad un'inadeguata mobilizzazione dei grassi di deposito. E' verosimile che l'azione positiva della colina sul metabolismo epatico dei grassi e sui meccanismi di trasporto possa esercitare un'influenza favorevole anche in questo caso.

Si tratta di coprire il fabbisogno organico di colina che, nel ruminante, è verosimilmente superiore al livello stimato essere il fabbisogno alimentare delle specie monogastriche. Secondo Reid (24) e Lucas (25) questo fabbisogno per gatto, topo, cavia, suini e polli, è attorno allo 0,1% della sostanza secca della razione.

Si tratta di animali nei quali il metabolismo lipidico è sicuramente meno impegnativo di quello della forte lattifera. Per questo è verosimile che i fabbisog-

Tabella n. 12  
 Relazione integrità epatica-infecondità (Kerole, 1983)





gni alimentari siano superiori, soprattutto in non corrette situazioni alimentari.

La colina, nei ruminanti, svolge quindi un ruolo assai importante sia per l'azione di risparmio nei riguardi della metionina, sia per le proprie specifiche funzioni.

Un'esaltazione di questo ruolo si potrebbe ottenere con l'impiego di colina parzialmente protetta dalla degradazione ruminale (colina by-pass).

B I B L I O G R A F I A

- 1) COPPO, cit.: USUELLI F., 1948 - Dottrina dell'alimentazione, in: BONADONNA T., USUELLI F., Trattato di alimentazione razionale del bestiame, Vol. I, ed. Cisalpino, Milano-Varese.
- 2) BEST C.H., HERSHEY J.M., 1932 - Further observations on the effects of some component of crude lecithine on depancreatized animals, *J. Physiol.*, 75, 49.
- 3) DU VIGNEAUD V., CHANDLER J.P., MOYER A.W., KEPPEL D.M., 1939 - The effect of choline on the ability of homocystine to replace methionine in the diet, *J. Biol. Chem.*, 131, 57.
- 4) A.E.C., 1978 - Animal feeding. Energy, amino acids, vitamins, minerals, Document n. 4.
- 5) DU VIGNEAUD V., CHANDLER J.P., SIMMONDS S., MOYER A.W., CHON M., 1946 - The role of dimethyl- and mono-methylaminoethanol in transmetylation reactions in vivo, *J. Biol. Chem.* 164, 603-613.
- 6) BANSON B.B., HARTROFT W.S., RECANT L., 1962 - Enhancing effect of aminonucleoside-induced proteinuria on the dietary choline requirement of the rat, *J. Nutr.*, 76, 247-254.
- 7) BREMER J., GREENBERG D.M., 1961 - Methyl transferring enzyme system of microsomes in the biosynthesis of lecithin (phosphatidyl-choline), *Biochim. Biophys. Acta*, 46, 205.
- 8) OLER A., LOMBARDI B., 1970 - Further studies on a defect in the intracellular transport and secretion of proteins by the liver of choline-deficient rats, *J. Biol. Chem.*, 245, 1282-1288.
- 9) LUCAS C.L., RIDOUT J.H., 1977 - Fatti livers and

lipotropic phenomena, 1 vol., 150 p., Holman Edit., Pergamon Press.

- 10) BELLOMONTE G., COSTANTINI A., LEVI C., 1983 - Aspetti analitici e tecnologici relativi alla variabilità e stabilità di alcune vitamine negli integratori complessi per mangimi, Riv. It. Sci. Aliment., 12, (3), 165-172.
- 11) MARCHETTI M., 1980 - Il problema della stabilità delle vitamine negli integratori ed alimenti zootecnici, Tecnica Molitoria, 31 (3), 245-248.
- 12) WAUGH R.K., HAUGE S.M., KING W.A., 1946 - Choline studies with young dairy calves, J. Anim. Sci., 5, 397.
- 13) WAUGH R.K., 1947 - Choline studies with young dairy calves. I. Relation of the choline content of colostrum and calf blood, J. Dairy Sci., 30, 457.
- 14) JOHNSON B.C., MITCHELL H.H., PINKOS J.A., MORRILL C.C., 1951 - Choline deficiency in the calf, J. Nutr., 43, 37-48.
- 15) DAWSON R.M.C., HEMINGTON N., 1974 - Digestion of grass lipids and pigments in the sheep rumen, Br. J. Nutr., 32, 327-340.
- 16) BROAD T.E., DAWSON R.M.C., 1975 - Phospholipid biosynthesis in the anaerobic protozoon Entodinium caudatum, Biochem. J., 146, 317-328.
- 17) HILL K.J., MANGAN J.L., 1964 - The formation and distribution of methylamine in the ruminant digestive tract, Biochem. J., 93, 39-45.
- 18) BYGRAVE F.L., DAWSON R.M.C., 1976 - Phosphatidylcholine biosynthesis and choline transport in the anaerobic protozoon Entodinium caudatum, Biochem. J., 160, 481-490.

- 19) NEILL A.R., GRIME D.W., SNOSWELL A.M., NORTHROP A. J., LINDSAY D.B., DAWSON R.M.C., 1979 - The low availability of dietary choline for the nutrition of the sheep, *Biochem. J.*, 180, 559-565.
- 20) SWINGLE R.S., DYER I.A., 1970 - Effects of choline on rumen microbial metabolism, *J. Anim. Sci.*, 31, 404-408.
- 21) BAKER F.D., PAPISKA H.R., CAMPBELL L.L., 1962 - Choline fermentation by Desulfovibrio desulfuricans, *J. Bacteriol.*, 84, 973-978.
- 22) NEILL A.R., GRIME D.W., DAWSON R.M.C., 1978 - Conversion of choline methyl groups through trimethylamine into methane in the rumen, *Biochem. J.*, 170, 529-535.
- 23) REID e ROBERTS, cit. in: KERSALE P., 1983 - Les ets Guyomarc'h lancent l'aliment complémentaire unique, *Elevage Bovin*, 132, 20-21.
- 24) REID M.E., 1955 - Nutritional studies with the guinea pig, *J. Nutr.*, 56, 215-229.
- 25) LUCAS C.C., RIDOUT J.H., 1967 - Prog. Chem. Fats Other Lipids, 10, 1-150.