

G.B. CASTAGNETTI¹,
P. DELMONTE², S. MELIA¹,
A. GORI¹, G. LOSI¹

L'effetto dell'integrazione della razione con farina di lino estrusa sul contenuto in CLA (Acido Linoleico Coniugato) nel latte - Il caso della razza Reggiana

PROGRESS IN NUTRITION
VOL. 10, N. 3, 174-183, 2008

TITLE

The effect of extruded whole linseed flour intake on the variation of CLA (Conjugated Linoleic Acid) content in milk - The Reggiana cattle's case

KEY WORDS

CLA (Conjugated Linoleic Acid);
rumenic acid (C_{18:2} c9-t11);
vaccenic acid (C_{18:1} trans-11)

PAROLE CHIAVE

CLA (Acido Linoleico Coniugato);
acido rumenico (C_{18:2} c9-t11); acido
vaccenico (C_{18:1} trans-11)

¹Dipartimento di Scienze degli
Alimenti, Facoltà di Agraria,
Università di Bologna,
Sede di Reggio Emilia

²U.S. Food and Drug
Administration, Center for Food
Science and Applied Nutrition,
College Park, MD 20740

Indirizzo per la corrispondenza:
Prof. Gian Battista Castagnetti,
Via f.lli Rosselli, 107
42100 Reggio Emilia
Tel. 0522-290614 - Fax 0522-290610
E.mail: gian.castagnetti@unibo.it

Summary

The experiment was conducted on Reggiana cattle over an 8 months period in 2005. By integrating extruded whole linseed flour (300 g/d) to the basal ration (fresh or preserved forage) which changes according to the season, the possibility to modify both the milk fatty acid composition in general, and the CLA content (Conjugated Linoleic Acids) in particular, has been confirmed. The principal and statistically significant results find that Rumenic Acid (C_{18:2} c9-t11) and Vaccenic Acid (C_{18:1} trans-11) have risen up to 45% and 47% respectively on the milk fat content, subsequent to the extruded whole linseed flour administration. Moreover the results confirm the correlation between these two fatty acids in milk. However, saturated and monounsaturated fatty acids (SFA, MUFA) are not suitable to be modified, with the exception of the monounsaturated Oleic Acid that increases during the extruded whole linseed flour integration and decreases when it is suspended. In conclusion, it is possible to increase the CLA content in milk and dairy products and to improve their nutritional values in human nutrition through an appropriate and targeted cattle's ration integration.

Riassunto

Il presente lavoro è stato eseguito nel 2005, per una durata di circa 8 mesi, in un allevamento di bovine da latte di razza Reggiana. Agendo sulla modificazione della razione di base delle bovine in funzione del periodo di alimentazione (secco o verde) e con l'inserimento nella stessa di una integrazione di farina di lino estrusa (300 g/d) è stata confermata la possibilità di poter influenzare la composizione acidica in generale e il contenuto in CLA (Acido Linoleico Coniugato) in particolare, del grasso del latte. In questo senso, i principali risultati acquisiti e statisticamente significativi, riguardano in particolar modo l'Acido Rumenico (C_{18:2} c9-t11) e l'Acido Vaccenico (C_{18:1} trans-11) che aumentano rispettivamente del 45% e del 47%, in seguito alla somministrazione di lino; peraltro gli stessi dati confermano la stretta correlazione esistente tra il contenuto di questi due acidi grassi presenti nel latte. D'altra parte, gli acidi grassi saturi (SFA) e monoinsaturi (MUFA) non subiscono variazioni significative, con un'unica eccezione rappresentata dall'acido oleico, che aumenta in corrispondenza dell'integrazione con il lino e diminuisce quando lo stesso componente viene sospeso dalla dieta. In

conclusione risulta pertanto possibile poter aumentare il contenuto in CLA nel latte e di conseguenza nei prodotti derivati e migliorare il valore nutrizionale degli stessi nell'ambito dell'alimentazione umana attraverso un'opportuna e mirata integrazione della razione delle bovine.

Introduzione

È noto come a fronte dei notevoli lavori effettuati per migliorare la composizione in acidi grassi degli oli vegetali, ben poco sia stato fatto, invece, per migliorare quella dei grassi di origine animale, compresi quelli del latte, che notoriamente non godono di buona fama presso i consumatori. Solo in questi ultimi anni si è iniziato anche nel nostro paese a lavorare seriamente in questa direzione con risultati incoraggianti e tali da giustificare un proseguimento di dette osservazioni. In questa logica, negli ultimi tempi si è osservato un aumento crescente del numero degli studi e delle ricerche proprio rivolte agli effetti benefici esercitati da alcuni acidi grassi essenziali; tra quest'ultimi è possibile ricordare l'acido linoleico ($C_{18:2}$ *cis*-9, *cis*-12), che non essendo sintetizzato dal nostro organismo deve essere introdotto attraverso un'adeguata alimentazione. Questo acido è il precursore dei CLA (Conjugated Linoleic Acids), intendendo con tale sigla l'insieme degli isomeri di posizione e geometrici dell'acido linoleico con doppi legami coniugati (1). Nell'ambito

dei CLA, il *cis*-9, *trans*-11 (acido rumenico) è l'unico acido grasso che presenta in maniera inequivocabile attività anticarcinogena in esperimenti realizzati su animali (1-7) e si è dimostrato attivo anche verso altre patologie (6-17). Per di più, a differenza degli altri isomeri che hanno un'origine esogena, grazie alla presenza nel ruminante del batterio *Butyrivibrio fibrisolvens*, che è in grado di convertire per via enzimatica l'acido linoleico, largamente presente nella componente foraggera della dieta dei ruminanti, in CLA, l'acido rumenico può avere un'origine endogena (ghiandola mammaria e tessuto adiposo) a partire dall'acido vaccenico $C_{18:1}$ *trans*-11, in seguito all'azione dell'enzima Δ^9 desaturasi (3-6, 12, 15, 18-22). Nel latte dei ruminanti e nei suoi derivati la presenza dei CLA è più elevata rispetto a quella presente nella carne e circa l'80-90% è rappresentato dall'isomero *cis*-9, *trans*-11 (3, 6, 7, 14, 15, 18, 21, 23-26). Naturalmente la variazione del contenuto dei CLA risente dell'andamento stagionale (1, 7, 27-30) e risulta anche influenzata dall'alimentazione, dallo stadio di lattazione e dalla razza (4, 6, 7, 15,

22, 31, 32). Pertanto i ricercatori del settore zootecnico hanno cercato di realizzare strategie alimentari e regimi dietetici per i ruminanti finalizzati all'incremento di questi acidi grassi nel latte e di conseguenza nei suoi derivati (4, 6, 10, 15, 19-21, 31, 33-36), agendo in particolare modo, sulla composizione della razione alimentare (14, 15, 18, 22, 25, 26, 28, 29, 31, 35, 37-42). Sulla base di questa premessa e delle considerazioni accennate, lo scopo del presente lavoro è stato quello di verificare la possibilità di modificare la composizione acidica in generale e la presenza dei CLA in particolare del grasso del latte, attraverso interventi mirati sulla razione alimentare delle bovine, quali la natura dei foraggi (verde o secco) e l'integrazione con farina di lino estrusa, cercando la conferma o meno di risultati acquisiti in analoghe esperienze.

Materiali e metodi

Raccolta dei campioni

Il presente studio è stato condotto in un allevamento di bovine da latte

di razza Reggiana, collocato all'interno del comprensorio di produzione del formaggio Parmigiano Reggiano in provincia di Reggio Emilia. Nell'ambito di detto allevamento si è provveduto, con la collaborazione del responsabile tecnico, a modificare il normale ed usuale razionamento delle bovine, mantenendo costante la quota di concentrato (nella quantità indicata di 1 kg/3L di latte prodotto) ed agendo, in funzione del periodo, sulla razione di base (verde o secco) e con l'integrazione in farina di lino estrusa in ragione di 300 g capo/d, secondo il disegno sperimentale riportato in tabella 1.

In funzione dei diversi regimi alimentari adottati nei rispettivi periodi sperimentali, dal latte massale prodotto nell'allevamento e conferito ad un caseificio, è stata ottenuta per affioramento la crema e in seguito si è provveduto a prelevare dal tank di stoccaggio, previa miscelazione per 15 minuti, 150 mL della stessa in appositi contenitori.

Preparazione dei campioni

I campioni di crema, prelevati in corrispondenza dei diversi periodi sperimentali, sono stati conservati a -20°C fino al momento dell'analisi. In un secondo momento gli stessi sono stati riportati a temperatura ambiente e sottoposti ad estrazione in doppio, come di seguito descritto: circa 0,5 g di crema

Tabella 1 - Disegno sperimentale

Periodo	Razione alimentare	Campioni prelevati
25 Marzo - 29 Aprile	Foraggi essiccati (fieno + MCI*)	4
30 Aprile - 31 Maggio	Foraggi verdi + MCI	4
15 Agosto - 30 Settembre	Foraggi verdi + MCI + farina di lino estrusa (300g/d bovina)	7
12 Ottobre - 9 Novembre	Foraggi verdi + MCI dopo sospensione con farina di lino estrusa	3

* MCI: mangime composto integrato (1 kg/3 L latte)

Tabella 2 - Composizione percentuale in acidi grassi saturi e ramificati in relazione alla diversa razione alimentare

Saturi	Secco	Verde	Verde con lino	Verde senza lino
C4:0	3,55 ^b ± 0,10	3,52 ^b ± 0,04	3,20 ^a ± 0,08	3,26 ^a ± 0,05
C5:0	0,02 ^a ± 0,01	0,02 ^a ± 0,00	0,02 ^a ± 0,00	0,02 ^a ± 0,00
C6:0	2,12 ^b ± 0,03	2,08 ^b ± 0,07	1,90 ^a ± 0,02	1,97 ^a ± 0,03
C7:0	0,02 ^a ± 0,00			
C8:0	1,25 ^b ± 0,02	1,22 ^b ± 0,05	1,11 ^a ± 0,03	1,19 ^b ± 0,03
C9:0	0,02 ^a ± 0,00			
C10:0	2,73 ^b ± 0,05	2,67 ^b ± 0,13	2,38 ^a ± 0,07	2,64 ^b ± 0,05
C11:0	0,31 ^b ± 0,01	0,30 ^{ab} ± 0,01	0,28 ^a ± 0,01	0,31 ^{ab} ± 0,00
C12:0 +11:1	3,21 ^b ± 0,06	3,13 ^b ± 0,16	2,79 ^a ± 0,09	3,12 ^b ± 0,05
C13:0 +12:1	0,17 ^b ± 0,01	0,17 ^b ± 0,01	0,15 ^a ± 0,01	0,17 ^b ± 0,00
C14:0	11,15 ^b ± 0,08	10,96 ^b ± 0,49	10,20 ^a ± 0,22	10,94 ^b ± 0,11
C15:0	1,26 ^a ± 0,02	1,27 ^a ± 0,04	1,20 ^a ± 0,05	1,26 ^a ± 0,03
C16:0	29,07 ^b ± 0,66	28,64 ^b ± 1,08	25,74 ^a ± 0,85	27,76 ^b ± 0,07
C17:0	0,76 ^{ab} ± 0,02	0,79 ^b ± 0,02	0,73 ^a ± 0,02	0,77 ^{ab} ± 0,01
C18:0	10,54 ^a ± 0,22	11,52 ^b ± 0,31	12,56 ^c ± 0,33	11,17 ^{ab} ± 0,19
C19:0	0,03 ^a ± 0,05	0,11 ^a ± 0,00	0,15 ^a ± 0,18	0,08 ^a ± 0,03
C20:0	0,20 ^{ab} ± 0,01	0,21 ^{bc} ± 0,01	0,22 ^c ± 0,01	0,18 ^a ± 0,01
C22:0	0,08 ^a ± 0,01	0,10 ^a ± 0,01	0,09 ^a ± 0,01	0,08 ^a ± 0,01
C24:0	0,07 ^a ± 0,00	0,07 ^a ± 0,00	0,07 ^a ± 0,01	0,07 ^a ± 0,00

Lettere differenti indicano una differenza significativa (test di Tukey con $p < 0,05$)

sono stati introdotti in un imbuto separatore da 1000 mL, dove sono stati addizionati 50 mL di etere dietilico. La soluzione è stata miscelata per un minuto, sono stati aggiunti 50 mL di etere di petrolio/ etere dietilico 50:50 (v/v) miscelando per un altro minuto; sono stati ancora aggiunti 50 mL di etere di petrolio e sono stati miscelati per un minuto in modo energico. Infine sono stati addizionati 200 mL di una soluzione satura di cloruro di sodio e l'imbuto separatore è stato agitato lentamente per un minuto. La fase surnatante è stata raccolta e filtrata su sodio solfato anidro e dopo una successiva estrazione gli estratti sono stati riuniti. Il solvente organico è stato rimosso sotto flusso d'azoto e l'estratto è stato conservato a -20°C sotto azoto. La preparazione dei metil esteri è stata eseguita seguendo la procedura modificata di Cruz-Hernandez et al. (43), come indicato: 20 mg di grasso secco sono stati introdotti in una provetta, dove sono stati aggiunti 2 mL di esano, seguiti da 40 µL di metil acetato e 300 µL di 0,5 N di sodio metossido in metanolo (#33080, Supelco Inc., Bellefonte, PA). Il solvente in eccesso è stato allontanato attraverso un debole flusso d'azoto e dopo agitazione, la provetta è stata sottoposta a riscaldamento per 10 min a 50°C in un bagno di olio di silicone e poi congelata. Sono stati aggiunti 180 µL di acido ossalico

Tabella 3 - Composizione percentuale in acidi grassi monoinsaturi (*cis* + *trans*) in relazione alla diversa razione alimentare

Monoinsaturi	Secco	Verde	Verde con lino	Verde senza lino
C13:1	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00
C14:1	0,90 ^{ab} ± 0,03	0,87 ^{ab} ± 0,03	0,83 ^a ± 0,05	0,93 ^b ± 0,03
C15:1	0,01 ^a ± 0,01	0,01 ^a ± 0,01	0,01 ^a ± 0,00	0,01 ^a ± 0,00
C16:1 ^{c9}	1,31 ^b ± 0,02	1,26 ^{ab} ± 0,03	1,17 ^a ± 0,06	1,32 ^b ± 0,04
C17:1 ^c	0,27 ^{ab} ± 0,01	0,27 ^{ab} ± 0,01	0,25 ^a ± 0,01	0,28 ^b ± 0,01
C18:1 ^{c9 (+15)}	20,91 ^a ± 0,34	21,44 ^a ± 0,54	22,62 ^b ± 0,50	21,85 ^{ab} ± 0,57
C18:1 ^{c11}	0,55 ^a ± 0,01	0,56 ^a ± 0,03	0,55 ^a ± 0,02	0,45 ^a ± 0,20
C18:1 ^{c12}	0,26 ^a ± 0,01	0,27 ^a ± 0,01	0,31 ^a ± 0,02	0,32 ^a ± 0,16
C18:1 ^{c13}	0,07 ^a ± 0,01	0,08 ^a ± 0,00	0,09 ^a ± 0,01	0,05 ^a ± 0,04
C18:1 ^{c15}	0,11 ^a ± 0,01	0,12 ^a ± 0,00	0,14 ^a ± 0,06	0,07 ^a ± 0,05
C19:1 ^{c7}	0,11 ^b ± 0,00	0,11 ^b ± 0,00	0,06 ^a ± 0,12	0,03 ^{ab} ± 0,06
C20:1 ^{c5}	0,01 ^a ± 0,01	0,01 ^a ± 0,01	0,01 ^a ± 0,02	0,02 ^a ± 0,00
C20:1 ^{c8}	0,14 ^a ± 0,01	0,15 ^a ± 0,01	0,12 ^a ± 0,05	0,14 ^a ± 0,01
C20:1 ^{c11}	0,05 ^a ± 0,01	0,05 ^a ± 0,00	0,06 ^a ± 0,03	0,05 ^a ± 0,00
C22:1	0,01 ^a ± 0,00	0,01 ^a ± 0,01	0,02 ^a ± 0,00	0,02 ^a ± 0,01
C24:1	0,01 ^a ± 0,00	0,02 ^a ± 0,01	0,01 ^a ± 0,01	0,01 ^a ± 0,00

Lettere differenti indicano una differenza significativa (test di Tukey con $p < 0,05$)

(0,5 g in 15 mL di etere-dietilico) che sono stati miscelati accuratamente; successivamente il sodio-ossalato precipitato è stato separato per centrifugazione e la frazione di esano è stata filtrata attraverso il sodio solfato anidro.

Analisi Gas-Cromatografica

La determinazione della componente acidica è stata eseguita mediante l'analisi degli esteri metilici degli acidi grassi (FAME), previa trans-metilazione, con un gas-cromatografo Agilent 6890 (Hewlett Packard, Wilmington, DE) fornito

di una colonna capillare CP Sil 88 (100 m x 0,25 mm i.d., 0,2 µm spessore film, fase stazionaria; Varian, Inc.) ed un detector a ionizzazione di fiamma (FID). È stato utilizzato l'idrogeno come gas di trasporto ad un flusso costante di 1.0 mL/min. Il detector FID è stato mantenuto a 300°C con un flusso di aria di 400 mL/min, un flusso di idrogeno di 30 mL/min e un flusso di elio di 30 mL/min. L'inniettore è stato mantenuto a 250°C con un rapporto di splittaggio di 1:100. La temperatura della colonna è stata programmata come segue: 80°C per 4 min; incremento di

Tabella 4 - Composizione percentuale in acidi grassi polinsaturi in relazione alla diversa razione alimentare

Polinsaturi	Secco	Verde	Verde con lino	Verde senza lino
18:2 c9-t12	2,15 ^a ± 0,18	2,13 ^a ± 0,05	2,14 ^a ± 0,08	2,19 ^a ± 0,02
C18:2 c9-t11	0,80 ^a ± 0,08	0,80 ^a ± 0,02	1,16 ^b ± 0,07	0,94 ^a ± 0,06
C18:2 c9-t11	0,04 ^a ± 0,01	0,05 ^a ± 0,03	0,04 ^a ± 0,02	0,04 ^a ± 0,01
C18:2 t11-t13	0,01 ^a ± 0,01	0,02 ^a ± 0,01	0,06 ^b ± 0,03	0,03 ^a ± 0,00
C18:2 t11,t13	0,00 ^a ± 0,01	0,01 ^a ± 0,02	0,00 ^a ± 0,01	0,00 ^a ± 0,00
C18:2 c9,t11,t10,t12	0,02 ^a ± 0,01	0,01 ^a ± 0,01	0,03 ^a ± 0,02	0,01 ^a ± 0,01
C18:2 c9-t13	0,18 ^a ± 0,02	0,19 ^a ± 0,01	0,26 ^b ± 0,02	0,21 ^a ± 0,01
C18:3 c-c-c n-3	0,75 ^a ± 0,07	0,72 ^a ± 0,05	0,96 ^b ± 0,10	0,78 ^a ± 0,05
C18:3 c-c-c n-6	0,05 ^b ± 0,00	0,04 ^b ± 0,00	0,03 ^a ± 0,01	0,04 ^{ab} ± 0,00
C20:2	0,03 ^a ± 0,00	0,03 ^a ± 0,00	0,03 ^a ± 0,01	0,03 ^a ± 0,00
C20:3 n-3	0,02 ^a ± 0,00	0,02 ^a ± 0,00	0,01 ^a ± 0,01	0,02 ^a ± 0,00
C20:3 n-6	0,11 ^a ± 0,01	0,11 ^a ± 0,01	0,10 ^a ± 0,01	0,11 ^a ± 0,01
C20:4	0,15 ^b ± 0,00	0,15 ^b ± 0,01	0,11 ^a ± 0,04	0,14 ^{ab} ± 0,01
C20:5	0,06 ^{ab} ± 0,00	0,07 ^b ± 0,00	0,05 ^a ± 0,02	0,06 ^{ab} ± 0,00
C22:2	0,03 ^{ab} ± 0,00	0,04 ^b ± 0,01	0,03 ^a ± 0,02	0,04 ^b ± 0,01
C22:3	0,00 ^a ± 0,01	0,00 ^a ± 0,00	0,00 ^a ± 0,00	0,00 ^a ± 0,00
C22:4	0,02 ^a ± 0,00	0,03 ^a ± 0,00	0,02 ^a ± 0,01	0,02 ^a ± 0,00
C22:5	0,12 ^a ± 0,00	0,12 ^a ± 0,00	0,11 ^a ± 0,01	0,12 ^a ± 0,01
C22:6	0,00 ^a ± 0,00	0,01 ^a ± 0,01	0,01 ^a ± 0,02	0,01 ^a ± 0,00

Lettere differenti indicano una differenza significativa (test di Tukey con $p < 0,05$)

si saturi identificati e quantificati risultano praticamente invariati, solo il C₄ e il C₆ subiscono una riduzione percentuale peraltro statisticamente significativa ($p < 0,05$) in relazione all'introduzione del lino nella dieta. Nella tabella 3 la quasi totalità dei 16 acidi monoinsaturi identificati non subisce variazioni particolarmente rilevanti, unica eccezione l'acido oleico che, al contrario, in coincidenza dell'impiego di lino nella razione alimentare subisce un aumento significativo. Dalla osservazione della tabella 4, relativa alle variazioni dei 19 acidi grassi polinsaturi, è possibile segnalare un aumento dell'acido rumenico (C_{18:2} c9-t11) quando la dieta viene arricchita con il lino e una sua corrispondente diminuzione quando lo stesso viene rimosso dalla dieta. In entrambi i casi queste variazioni risultano essere statisticamente significative ($p < 0,05$). Sempre nella stessa tabella 4 è possibile inoltre verificare anche come l'impiego del lino comporta una riduzione significativa dell'acido arachidonico (C_{20:4}) che peraltro aumenta di nuovo, subito dopo la sospensione del lino dalla razione. Relativamente agli acidi grassi insaturi in configurazione *trans* (tabella 5) i risultati ottenuti evidenziano che l'acido vaccenico (C_{18:1} *trans*-11) aumenta in modo statisticamente significativo passando dall'alimentazione secca a quella verde, ma nello stesso modo aumenta in maniera

7°C/min fino a 180°C, temperatura mantenuta per 30 min; infine incremento di 4°C/min fino a 225°C per 20 min.

Analisi statistica

I dati sono stati analizzati con il test di Tukey (programma Statistica versione 6.0) per valutare i differenti livelli di significatività del contenuto degli acidi grassi dei campioni di crema in relazione ai diversi regimi alimentari.

Risultati e discussione

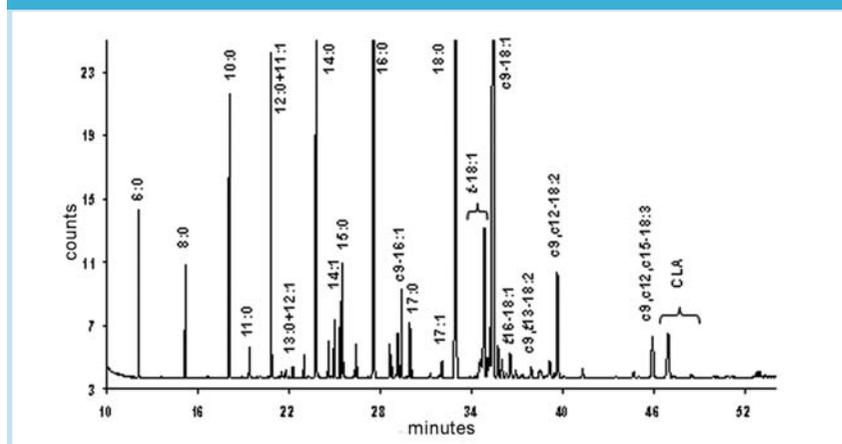
Su tutti i campioni analizzati sono stati separati, identificati e quantificati complessivamente 67 acidi grassi e più precisamente 19 saturi, 16 monoinsaturi, 19 polinsaturi e 13 mono e diinsaturi *trans*. I risultati di dette analisi, effettuati in doppio, sono riportati nelle tabelle 2-5 rispettivamente per i quattro gruppi di acidi grassi sopra citati. Dall'esame dei dati in tabella 2 si può notare che 17 dei 19 acidi gras-

Tabella 5 - Composizione percentuale in acidi grassi mono e diinsaturi *trans* in relazione alla diversa razione alimentare

Insaturi <i>trans</i>	Secco	Verde	Verde con lino	Verde senza lino
18:2 <i>c9-c12</i>	2,15 ^a ± 0,18	2,13 ^a ± 0,05	2,14 ^a ± 0,08	2,19 ^a ± 0,02
C16:1 <i>t</i>	0,08 ^a ± 0,01	0,08 ^a ± 0,00	0,11 ^a ± 0,04	0,10 ^a ± 0,00
C18:1 <i>t4</i>	0,02 ^a ± 0,00	0,02 ^a ± 0,00	0,03 ^b ± 0,00	0,02 ^a ± 0,00
C18:1 <i>t5</i>	0,02 ^a ± 0,01	0,02 ^a ± 0,00	0,02 ^a ± 0,01	0,01 ^a ± 0,01
C18:1 <i>t6-8</i>	0,21 ^a ± 0,01	0,22 ^a ± 0,00	0,28 ^b ± 0,01	0,23 ^a ± 0,02
C18:1 <i>t9</i>	0,30 ^a ± 0,01	0,32 ^{ab} ± 0,00	0,35 ^b ± 0,03	0,31 ^a ± 0,01
C18:1 <i>t10</i>	0,32 ^a ± 0,03	0,34 ^a ± 0,03	0,31 ^a ± 0,03	0,32 ^a ± 0,01
C18:1 <i>t11</i>	1,68 ^a ± 0,06	1,80 ^{ab} ± 0,03	2,65 ^c ± 0,18	2,06 ^b ± 0,02
C18:1 <i>t12</i>	0,26 ^a ± 0,02	0,27 ^a ± 0,00	0,36 ^b ± 0,03	0,26 ^a ± 0,01
C18:1 <i>t16</i>	0,30 ^a ± 0,14	0,32 ^{ab} ± 0,01	0,51 ^b ± 0,06	0,30 ^{ab} ± 0,16
C18:2 <i>t9,t12</i>	0,00 ^a ± 0,00	0,00 ^a ± 0,00	0,02 ^a ± 0,02	0,00 ^a ± 0,00
C18:1 <i>t13+t14 (+t6-8)</i>	0,62 ^a ± 0,02	0,68 ^a ± 0,01	0,89 ^b ± 0,06	0,66 ^a ± 0,03
C18:2 <i>c9-t12</i>	0,24 ^a ± 0,10	0,10 ^a ± 0,01	0,19 ^a ± 0,14	0,16 ^a ± 0,13
C18:2 <i>t9-c12</i>	0,10 ^a ± 0,01	0,12 ^a ± 0,01	0,28 ^b ± 0,13	0,20 ^a ± 0,04

Lettere differenti indicano una differenza significativa (test di Tukey con $p < 0,05$)

Figura 1 - Separazione in gas-cromatografia degli acidi grassi



rilevante quando, oltre al verde è presente il lino; sospendendo successivamente quest'ultimo dall'ali-

mentazione verde, il *trans*-vaccenico diminuisce di nuovo sempre in misura statisticamente significativa.

La stessa osservazione relativa al vaccenico, è possibile farla anche per l'elaidinico C_{18:1} *trans*9. Nella figura 1 è stato riportato il cromatogramma intero relativo a tutti gli acidi grassi separati e identificati, mentre nella figura 2 è illustrato il cromatogramma relativo all'eluizione degli acidi grassi mono e diinsaturi. Nella figura 3 è stata presa in considerazione la zona relativa ai CLA, da noi ritenuti di maggiore interesse nell'ambito di questa nostra ricerca. Nella figura 4 possiamo notare l'andamento del contenuto degli acidi rumenico e vaccenico durante tutto l'arco della prova. Nella figura 5 sono riportate le principali variazioni dei 4 gruppi di acidi grassi studiati. Pertanto l'indagine condotta sui campioni in questione dimostra che è possibile aumentare sensibilmente il contenuto in CLA nel grasso del latte, mediante l'aggiunta di soli 300 g/d di farina di lino estrusa alla normale dieta delle lattifere. Incrementi del contenuto in CLA, superiori a quelli da noi rilevati in questa esperienza sono stati ottenuti da Monici et al. (14) che hanno operato su un gruppo di 2000 bovine, trattate con una dieta in grado di far aumentare il contenuto degli ω3 (EPA e DHA) nel grasso del latte. In tale ricerca infatti, è stato rilevato un totale di 1,31 g di CLA/100 g di grasso vs 1,16 g/100 g di grasso ottenuti nella nostra ricerca. Sempre su questo argomento dob-

Figura 2 - Cromatogramma degli acidi grassi mono e diinsaturi

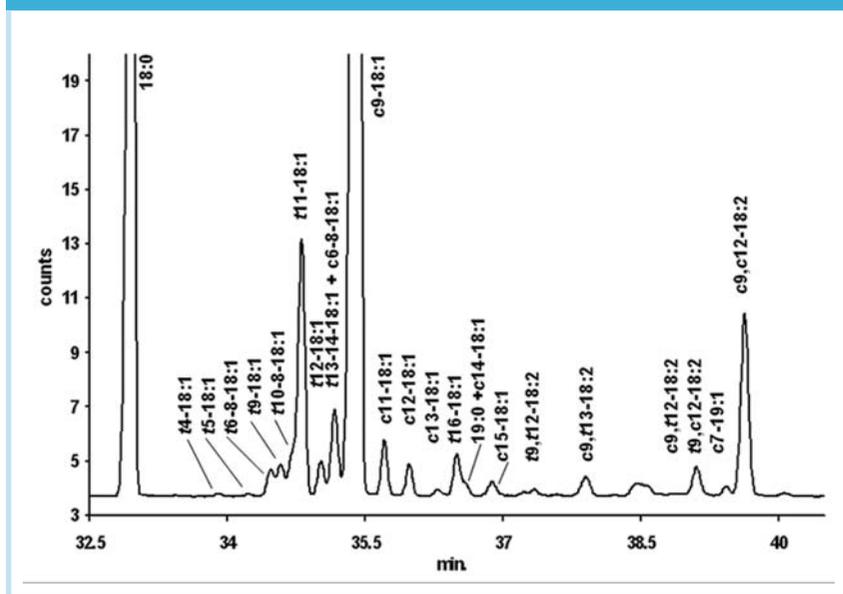
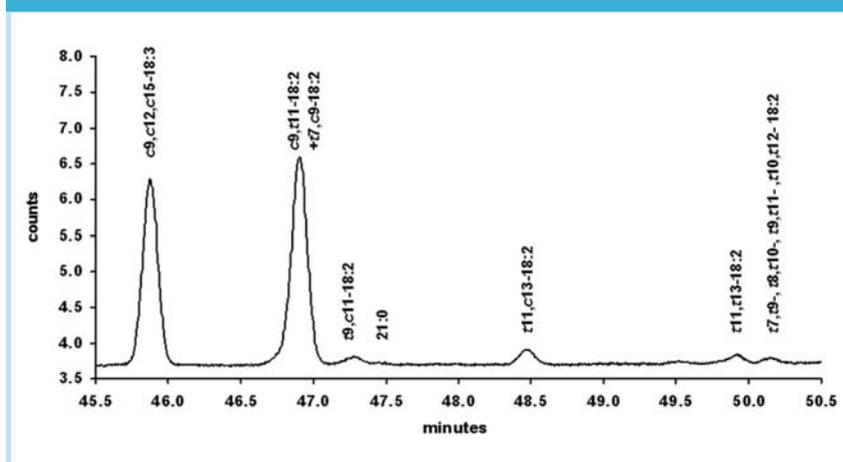


Figura 3 - Cromatogramma parziale dei CLA



biamo segnalare che fin dal 1967 (esattamente 40 anni fa) Stocchi et al (28, 29), in due indagini riguardanti l'analisi di 200 campioni di burro emiliani, hanno prima sepa-

rato e identificato oltre 30 acidi grassi e in seguito hanno stabilito anche una correlazione positiva tra contenuto in *trans*-monoinsaturi (ac. vaccenico) e dieni-coniugati

(oggi denominati CLA). Altra considerazione degna di nota è che gli stessi Autori di dette analisi sottolineano una notevole uniformità nella composizione acidica dei burri prelevati nelle province del comprensorio del formaggio Parmigiano Reggiano, rispetto invece alla notevole variabilità rilevata nei campioni di burro prelevati nelle altre province dell'Emilia Romagna. Osservazione quest'ultima non coincidente con quella più recente di Chiavari et al (44). Infine Capella et al (45) nel 1974, sempre sullo stesso argomento, hanno riportato le più importanti acquisizioni riguardanti 71 acidi grassi identificati con diverse tecniche analitiche.

Conclusioni

A testimonianza del notevole interesse suscitato dai CLA, è sufficiente sottolineare che negli ultimi otto anni sono apparsi sulle riviste scientifiche più di 2600 articoli riguardanti il contenuto in CLA nei prodotti lattiero caseari, sul loro notevole significato salutistico e nutrizionale nell'ambito dell'alimentazione umana.

Nella presente ricerca condotta per circa otto mesi su bovine di razza Reggiana, allevate all'interno del comprensorio di produzione del formaggio Parmigiano Reggiano e dall'esame dei risultati ottenuti ed elaborati statisticamente, è possibile

Figura 4 - Effetto dell'integrazione con farina di lino estrusa: variazioni dell'acido vaccenico e dell'acido rumenico al variare della dieta (■ percentuale acido trans -vaccenico; ◆ percentuale acido rumenico)

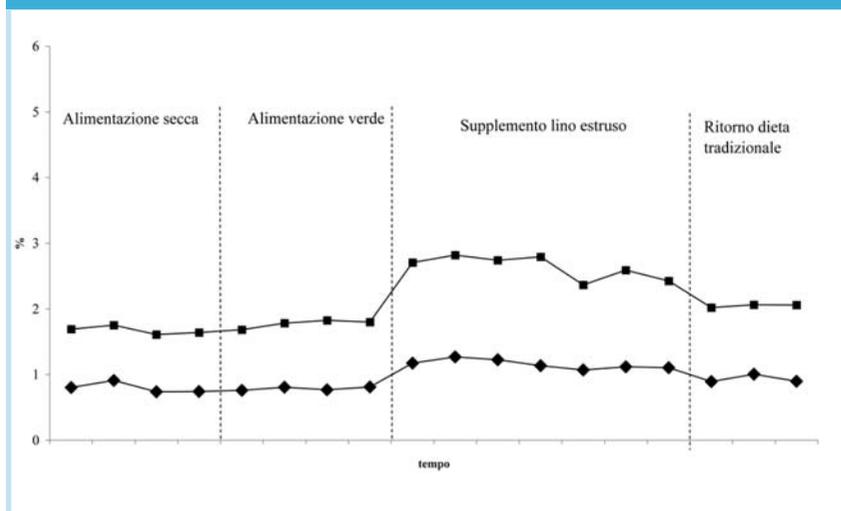
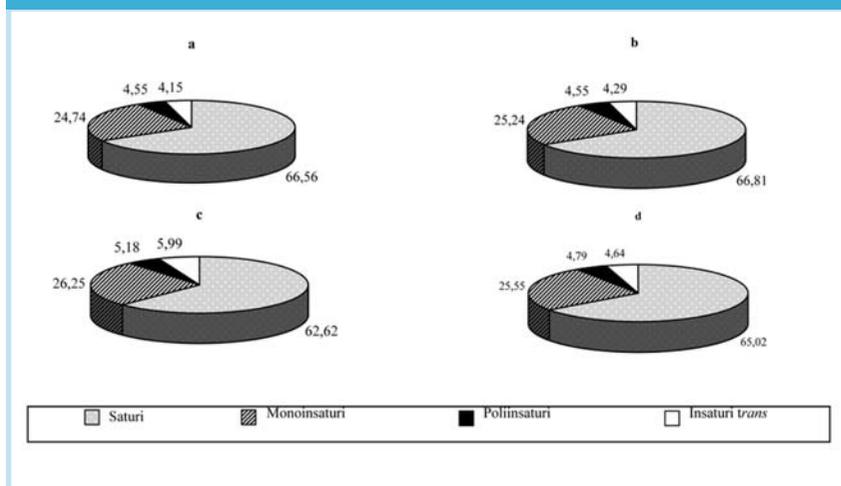


Figura 5 - Effetto dell'integrazione con farina di lino estrusa: variazione della composizione acidica (a: alimentazione secca; b: alimentazione verde; c: alimentazione verde con lino; d: alimentazione verde senza lino)



menico nel latte grazie all'impiego di diete alimentari delle bovine, arricchite con farina di lino estrusa. Nel corso della presente esperienza con l'aggiunta di soli 300 g/d di lino estruso, l'aumento percentuale dell'acido rumenico è stato del 45% e quello dell'acido *trans* vaccenico è risultato del 47%, a testimonianza della stretta correlazione esistente tra questi due acidi grassi presenti nel latte (3, 6, 15, 18-20, 22, 36, 40). Questo primo risultato è, a nostro modesto avviso, particolarmente positivo e interessante soprattutto per l'entità della variazione quantitativa per quanto riguarda l'acido rumenico. Per il *trans* vaccenico, invece, questa variazione pur importante da sottolineare, può allo stesso tempo essere considerata negativamente, visto il dibattito in corso a livello di UE e USA sul contenuto in acidi grassi *trans* totali (AGT) nell'alimentazione dell'uomo moderno. Quest'ultimi infatti sono presenti nella maggior parte dei prodotti alimentari che contengono grassi idrogenati e che influiscono di conseguenza, sulla concentrazione delle lipoproteine a bassa e ad alta densità (LDL, HDL), comportando pertanto un elevato rischio legato alle malattie cardiache (46-48). La seconda considerazione, che è direttamente collegata alla prima, riguarda l'aumento degli AGT totali nel latte in seguito all'introduzione del lino nella razione; tale aumento, che è risulta-

formulare alcune considerazioni di carattere finale a nostro avviso particolarmente interessanti. La prima considerazione è rappresentata dal

fatto che risulta confermato quanto già acquisito da diversi altri Autori (25, 26, 40) e cioè che è possibile aumentare il contenuto in acido ru-

to dell'ordine del 39% circa, ha fatto seguire in un secondo momento una diminuzione del 29%, in conseguenza della avvenuta sospensione dello stesso componente.

Bibliografia

1. Parodi PW. Cow's milk fat components as potential anticarcinogenic agents. *J Nutr* 1997; 127: 1055-60.
2. Banni S, Angioni E, Carta G, et al. Influence of dietary conjugated linoleic acid on lipid metabolism in relation of its anticarcinogenic activity. In *Advances in conjugated linoleic acid research, Vol.1*. Champaign IL: AOCS Press, 1999: 307-18.
3. Destailats F, Japiot C, Chouinard PY, Arul J, Angers P. Short communication: rearrangement of rumenic acid in ruminant fats: a marker of thermal treatment *J Dairy Sci* 2005; 88: 1631-35.
4. Di Trana A, Brughieri A. Una fetta di salute *Caseus* 1998; 1: 42-45.
5. Jenkins TC, McGuire MA. Major advances in nutrition: impact on milk composition. *J Dairy Sci* 2006; 89: 1302-10.
6. Kelsey JA, Cori BA, Collier RJ, Bauman DE. The effect of breed, parity and stage of lactation on conjugated linoleic acid (CLA) in milk fat from dairy cows. *J Dairy Sci* 2003; 86: 2588-97.
7. Secchiari P, Mele M, Serra A, Paoletti F. Le frazioni lipidiche del latte e della carne dei ruminanti, *Atti Conv. "Giornata di studio su: latte e carne dei ruminanti componente lipidica e salute umana"*, Firenze, 6 marzo 2002.
8. Ballarini G. Latte ed alimentazione evolucionistica. *La selezione vet* 2002; 4: 231-57.
9. Baumgard LH, Mshvili E, Corl BA. Trans-10, cis-12 conjugated linoleic acid decreases lipogenic rates and expression of genes involved in milk lipid synthesis in dairy cows. *J Dairy Sci* 2002; 85: 2155-63.
10. Campbell W, Drake MA, Larick DK. The impact of fortification with conjugated linoleic acid (CLA) on the quality of fluid milk. *J Dairy Sci* 2003; 86: 43-51.
11. Corl BA, Butler ST, Butler WR, Bauman DE. Short communication: regulation of milk fat yield and fatty acid composition by insulin. *J Dairy Sci* 2006; 89: 4172-75.
12. Matassino D, Occidente M. Tutela della biodiversità e salute umana. *L'allevatore* 2003; 14: 8-9.
13. Melis MP, Murru E, Lucchi L, et al. Metabolismo del CLA nell'uomo in relazione a diversi stati patologici. *Prog Nutr* 2003; 5: 199-200.
14. Monici M, Bandini E, Besia G, Gandolfi I, Pinelli C, Cagnasso P. Vie di arricchimento del latte con acidi grassi polinsaturi. *Sci e Tecn Latt-Cas* 2006; 57: 271-84.
15. Moore CE, Kay JK, Collier RJ, VanBaale MJ, Baumgard LH. Effect of supplemental conjugated linoleic acids on heat-stressed Brown Swiss and Holstein cows. *J Dairy Sci* 2005; 88: 1732-40.
16. Peterson DG, Baumgard LH, Bauman DE. Short communication: Milk fat response to low doses of trans-10, cis-12 conjugated linoleic acid (CLA). *J Dairy Sci* 2002; 85: 1764-66.
17. Peterson DG, Matitashvili EA, Bauman DE. Diet-induced milk fat depression in dairy cows results in increased trans-10,cis-12 CLA in milk fat and coordinate suppression of mRNA abundance for mammary enzymes involved in milk fat synthesis. *J Nutr* 2003; 133: 3098-3102.
18. AbuGhazaleh AA, Schingoethe DJ, Hippen AR, Kalscheur KF. Conjugated linoleic acid increases in milk when cows fed fish meal and extruded soybeans for an extended period of time. *J Dairy Sci* 2004; 87: 1758-66.
19. Griinari JM, Corl BA, Lacy SH, Chouinard PY, Nurmela KVV, Bauman DE. Conjugated linoleic acid is synthesized endogenously in lactating dairy cows by Δ^9 desaturase. *J Nutr* 2000; 130: 2285-91.
20. Jiang J, Bjoerck L, Fonden R, Emanuelson M. Occurrence of conjugated cis-9, trans-11-octadecadienoic acid in bovine milk: effects of feed and dietary regimen. *J Dairy Sci* 1996; 79: 438-45.
21. Kay JK, Mackle TR, Auldism MJ, Thomson NA, Bauman DE. Endogenous synthesis of cis-9, trans-11 conjugated linoleic acid in dairy cows fed fresh pasture. *J Dairy Sci* 2004; 87: 369-78.
22. Whitlock LA, Schingoethe DJ, AbuGhazaleh AA, Hippen AR, Kalscheur KF. Milk production and composition from cows fed small amounts of fish oil with extruded soybeans. *J Dairy Sci* 2006; 89: 3972-80.
23. Jiang J, Bjoerck L. Production of conjugated linoleic acid by dairy starter cultures. *J appl microbiol* 1998; 85: 95-102.
24. Prandini A, Conti F. Livelli di acido linoleico coniugato nei formaggi italiani ed esteri. *Progr Nutr* 2003; 5: 176.
25. Zhang RH, Mustafa AF, Zhao X. Effects of feeding oilseeds rich in linoleic and linolenic fatty acids to lactating ewes on cheese yield and on fatty acid composition of milk and cheese. *Anim Feed Sci Tech* 2006; 127: 220-33.
26. Zhang R, Mustafa AF, Zhao X. Effects of flaxseed supplementation to lactating ewes on milk composition, cheese yield, and fatty acid composition of milk and cheese. *Small Ruminant Res* 2006; 63: 233-41.
27. Chamba JF, Chardigny JM, Gnadig S, et al. Conjugated linoleic acid (CLA) content of French Emmental cheese: effect of the season region of production, processing and culinary preparation. *Lait* 2006; 86: 461-67.
28. Strocchi A, Capella P, Carnacini A, Pallotta U. Il burro prodotto in Emilia. *Industrie agrarie* 1967; 5: 177-185.

29. Strocchi A, Capella P, Pallotta U, Taddia M. Il burro prodotto in Emilia. *Industrie agrarie* 1967; 5: 481-91.
30. Thorsdottir I, Hill J, Ramel A. Short communication: Seasonal variation in cis-9, trans-11 conjugated linoleic acid content in milk fat from Nordic Countries. *J Dairy Sci* 2004; 87: 2800-2.
31. Bernal-Santos G, Perfield JW, Barbaño DM, Bauman DE, Overton TR. Production responses of dairy cows to dietary supplementation with conjugated linoleic acid (CLA) during the transition period and early lactation. *J Dairy Sci* 2003; 86: 3218-28.
32. Delmonte PL, Bertolini L, Losi G, Castagnetti GB. Valorizzazione dei CLA (Conjugated Linoleic Acids) nel latte: significato biologico, prospettive analitiche ed applicative. *Atti Conv. "Metodologie avanzate di ricerca e tematiche strategiche per lo sviluppo del settore agro-alimentare"*, Mosciano Stazione (TE), 6-7 Dicembre 2000.
33. Antongiovanni M, Boccioni A, Mele M. Strategie nutrizionali per il miglioramento della frazione lipidica degli alimenti di origine animale. *Atti Conv. "Giornata di studio su: latte e carne dei ruminanti componente lipidica e salute umana"*, Firenze, 6 marzo 2002.
34. Khanal RC, Dhiman TR, Ure AL, Brennand CP, Boman RL, McMahon DJ. Consumer acceptability of conjugated linoleic acid-enriched milk and Cheddar cheese from cows grazing on pasture. *J Dairy Sci* 2005; 88: 1837-47.
35. Perfield JW, Lock AL, Pfeiffer AM, Bauman DE. Effects of amide-protected and lipid-encapsulated conjugated linoleic acid (CLA) supplements on milk fat synthesis. *J Dairy Sci* 2004; 87: 3010-16.
36. Piperova LS, Moallem U, Teter BB, Sampugna J, Yurawecz MP. Changes in milk fat in response to dietary supplementation with calcium salts of trans-18:1 or conjugated linoleic fatty acids in lactating dairy cows. *J Dairy Sci* 2004; 87: 3836-44.
37. De Veth MJ, Gulati SK, Luchini ND, Bauman DE. Comparison of calcium salts and formaldehyde-protected conjugated linoleic acid in inducing milk fat depression. *J Dairy Sci* 2005; 88: 1685-93.
38. Dhiman TR, Helmink ED, McMahon DJ, Fife RL, Pariza MW. Conjugated linoleic acid content of milk and cheese from cows fed extruded oilseeds. *J Dairy Sci* 1999; 82: 412-19.
39. Lawless F, Murphy JJ, Harrington D, Devery R, Stanton C. Elevation of conjugated cis-9,trans-11-octadecadienoic acid in bovine milk because of dietary supplementation. *J Dairy Sci* 1998; 81: 3259-67.
40. Looor JJ, Ferlay A, Ollier A, Doreau M, Chillard Y. Relation among trans and conjugated fatty acids and bovine milk fat yield due to dietary concentrate and linseed oil. *J Dairy Sci* 2005; 88: 726-40.
41. Rego OA, Rosa HJD, Portugal P, et al. Influence of dairy fish oil on conjugated linoleic acid, omega-3 and other acids in milk fat from grazing dairy cows. *Livest Prod Sci* 2005; 95: 27-33.
42. Tsuzuki T, Igarashi M, Iwata T, et al. Oxidation rate of conjugated linoleic acid and conjugated linolenic acid is slowed by triacylglycerol esterification and α -tocopherol. *Lipids* 2004; 39: 475-80.
43. Cruz-Hernandez C, Deng Z, Zhou J, et al. Methods for analysis of conjugated linoleic acid and trans -18:1 isomers in dairy fats by using a combination of gas chromatography, silver-ion thin-layer chromatography/gas chromatography, and silver-ion liquid chromatography. *J AOAC Int* 2004; 87: 545-62.
44. Chiavari C, Ferri G, Bagni A. Le panne di affioramento: composizione acidica attuale e relativi rapporti caratteristici. *Atti Conv. "1° Congresso nazionale di chimica degli alimenti"*, Messina e Giardini Naxos, 9-13 ottobre 1990.
45. Capella P, Losi G, Strocchi A. Recenti acquisizioni sui lipidi del latte. *S & TA* 1974; 1: 27-37.
46. Mensink RP, Katan MB. Effect of dietary trans fatty acids on high-density and low-density lipoprotein cholesterol levels in healthy subjects. *N Engl J Med* 1990; 323-439.
47. Judd JT, Clevidence BA, Muesing RA, Wittes J, Sunkin ME, Podczasy JJ. Dietary trans fatty acids: Effects on plasma lipids and lipoprotein of healthy men and women. *Am J Clin Nutr* 1994; 59: 861.
48. Kris-Etherton PM. Trans fatty acids and coronary heart disease risk: Report expert panel on trans fatty acids and coronary heart disease *Am J Clin Nutr* 1995; 62: 655S.