

COMPOSTI MINORI DELLA FRAZIONE LIPIDICA DEL LATTE E DEL FORMAGGIO: ACIDI GRASSI RAMIFICATI E IDROCARBURI NON VOLATILI E LORO IMPLICAZIONI NUTRACEUTICHE E DI TRACCIABILITÀ

Battelli G.¹, Povo M.²

¹ ISTITUTO DI SCIENZE DELLE PRODUZIONI ALIMENTARI - CNR, Milano

² CENTRO DI RICERCA PER LE PRODUZIONI FORAGGERE E LATTIERO-CASEARIE -
CRA, Lodi

RIASSUNTO

Numerosi studi coinvolgono il grasso del latte poiché, dal punto di vista qualitativo e quantitativo è la frazione maggiormente suscettibile di variazioni compositive, indotte sia dalla selezione genetica che dall'alimentazione delle bovine. In particolare la frazione lipidica di interesse nutraceutico comprende, oltre agli acidi grassi polinsaturi, tra cui il CLA, gli omega-6 e gli omega-3, anche gli acidi grassi ramificati a 12 - 17 atomi di carbonio. Sono importanti per la salute umana poiché sembrano migliorare il microbiota intestinale ed avrebbero proprietà anticancerogene, con meccanismi analoghi a quelli degli acidi grassi omega-3. Sono inoltre associati al consumo di foraggio verde nella razione, quindi possono essere considerati anche marker dell'alimentazione. Un'altra classe di costituenti presenti in limitata quantità ma assai interessante per la tracciabilità è rappresentata dagli idrocarburi non volatili. Tra questi, in particolare, emergono i composti di natura isoprenica, molecole che derivano dal fitolo della clorofilla per azione dei microrganismi del rumine. Una sperimentazione che ha coinvolto 29 aziende della Pianura Padana suddivise in tre zone geografiche distinte ha permesso di correlare positivamente i composti minori della frazione lipidica con i livelli di foraggio presente nelle razioni delle bovine.

Abstract

Dairy fat minor constituents: branched chain fatty acids and non-volatile hydrocarbons and their nutraceutical and traceability implications – Milk fat composition is highly influenced, both quantitatively and qualitatively, by the genetic selection of the animals and by the type of feeding. Several studies have been carried out on the composition of lipid fraction having nutraceutical importance, i.e. polyunsaturated fatty acids, such as CLA, omega-6 and omega-3, and branched chain fatty acids (BCFA) having 12-17 carbon atoms. BCFA seem to be important for human health since they would enhance the intestinal microbiota and are supposed to have anticancerogenic properties similar to that of omega-3 fatty acids. Their content is associated to the fresh forage consumption by the animals, thus they can also be considered markers of this type of feeding. As regards the traceability, interesting results were obtained from the chemical class of non volatile hydrocarbons and in particular from phytenes. They derive from phytol of chlorophyll by the action of rumen bacteria. In our research the composition of milk fat produced by twenty-nine farms, located in three geographical areas of the Po Plain and adopting different composition of the diet was studied. A positive correlation between the content of minor compounds of the lipid fraction and the forage levels in the animal feeding was detected.

Introduzione

La composizione della frazione lipidica del latte è, come noto, assai variabile essendo influenzata da fattori sia endogeni (razza, stadio di lattazione) che esogeni (condizioni ambientali e conduzione aziendale, soprattutto l'alimentazione). Tra questi, in particolare, la dieta dell'animale può avere un effetto importante sia sulla composizione in acidi grassi insaturi (CLA, omega-3 e omega-6), che sul contenuto di alcuni costituenti minori come gli acidi grassi ramificati (BCFA) e gli idrocarburi non volatili (NVH). In particolare, per quanto riguarda il livello dei BCFA, esso è correlato positivamente alla percentuale di foraggio nella dieta e al pascolamento delle bovine nel periodo estivo e negativamente alla percentuale di silomais (Vlaeminck e coll. 2006; Revello-Chion e coll. 2010; 2012). Questi composti sono anche associati alle caratteristiche nutraceutiche del latte in quanto sembrano possedere attività anticancerogena (Yang e coll. 2000, Wongtangtintharn e coll. 2004, Parodi 2008). Anche per quanto riguarda i NVH, alcuni lavori documentano, sia nel latte che nella carne, il legame tra la presenza di idrocarburi di natura isoprenica e la dieta, confrontando soprattutto l'effetto della presenza o meno del pascolo (Urbach e Stark, 1975; Larick e coll., 1987). Studi svolti in precedenza hanno dimostrato come la somma dei composti 1-fitene, 2-fitene e neofitadiene sia più elevata nel latte e formaggio prodotto in montagna, ottenuti da latte di animali allevati al pascolo, rispetto a quelli di pianura, ottenuti da animali con regime di alimentazione unifeed (Povolo e coll., 2009), mentre il rapporto tra gli idrocarburi a 29 e 27 atomi di carbonio abbia una buona abilità discriminante tra due tipologie di pascolo (Povolo e coll., 2012).

In questo lavoro è stato studiato, in aziende di pianura dove non si adottava il pascolo, se i BCFA ed alcune molecole della frazione idrocarbureica non volatile del latte fossero influenzate dal diverso contributo in foraggio nella dieta.

Materiale e metodi

La ricerca ha coinvolto 29 aziende zootecniche, conferenti di un unico caseificio che produce Grana Padano, localizzate in tre zone di produzione (Como-Lecco, Lodi, Mantova) e caratterizzate da diversa gestione aziendale. Il latte è stato prelevato in due periodi dell'anno: estate (luglio 2011) ed inverno (gennaio 2012). I dati riguardanti i valori medi della composizione delle diete nelle 29 aziende sono riassunti in Tabella 1.

Il grasso dal latte è stato separato attraverso una metodica che non prevede l'impiego di solventi (Povolo e coll., 2009). Un'aliquota di latte è stata centrifugata a freddo per separare la crema. La crema, trasferita in

una provetta di vetro, è stata addizionata di acido lattico e centrifugata alla temperatura di 60°C. Al termine di questa fase il grasso, che si trova come strato limpido e liquido, separato nella parte superiore della provetta, è stato recuperato e utilizzato per le successive analisi.

Per la determinazione dei BCFA, 50 mg del grasso separato sono stati sottoposti a transmetilazione in ambiente basico (Christopherson e Glass 1970) e separati mediante gascromatografia ad alta risoluzione su colonna da 100 m. Sono stati considerati gli acidi a conformazione iso e anteiso da C13 a C17.

La frazione idrocarburica è stata separata dal grasso mediante cromatografia liquida su colonna ed analizzata in GC/MS, come riportato da Povolo e coll. (2009). I dati sono stati sottoposti ad analisi della varianza (ANOVA) impiegando il programma Xlstat 7.5 package (Addinsoft, France).

Tabella 1 - Composizione percentuale della razione alimentare nelle aziende nei periodi estivo (e) ed invernale (i)

	Como/Lecco		Lodi		Mantova	
	e	i	e	i	e	i
mangimi-integrazione	16,8	11,7	14,9	17,4	25,6	25,5
silomais	33,8	37,1	34,5	37,1	16	24,2
fieno di prato	19,6	19,5	14,1	15,6	28,1	27,2
fieno medica	3,3	3	2,8	2,3	18	12,9
fieno di loiessa razione	1	-	2,5	3,7	2,2	1,3
farina di soia razione	7,9	7,9	6,1	4,3	-	-
farina di mais in razione	16,3	20,4	21,1	21,8	12,8	14,5
somma % fieno	23,8	22,5	19,4	21,5	48,2	41,3

Risultati e discussione

La composizione media percentuale delle razioni alimentari somministrate alle bovine nelle aziende delle tre zone si caratterizzava per una elevata percentuale di fieno di prato e di medica ed una minor percentuale di silomais nelle aziende della provincia di Mantova (Tabella 1).

Per quanto riguarda i BCFA, gli acidi grassi risultati più interessanti sono l'isoC14 e l'iso e l'anteiso C15 (Figura 1). Essi derivano dall'attività ruminale che, in presenza di elevate quantità di fieno o erba produce acidi grassi ex-novo a partire dall'isobutiril-CoA, derivato dalla valina, invece che dal più comune acetil-CoA. I BCFA sembrano associati alla zona di produzione di

Mantova, dove la percentuale di fieno nella razione è assai più elevata di quella delle altre due zone considerate (Tabella 1). Si può anche notare come nella zona di Lodi, dove la percentuale di fieno nella dieta invernale è leggermente superiore a quella del periodo estivo, vi sia un livello lievemente superiore dei BCFA. Nella zona di Como/Lecco e soprattutto nel mantovano, il livello dei BCFA è superiore d'estate, in relazione al maggior livello di fieno nella razione. Poiché viene riconosciuta a questi acidi grassi una attività anticancerogena comparabile a quella dell'acido linoleico coniugato (CLA), ed essendo presenti in percentuale superiore a quest'ultimo, il loro significato nutraceutico risulta assai importante.

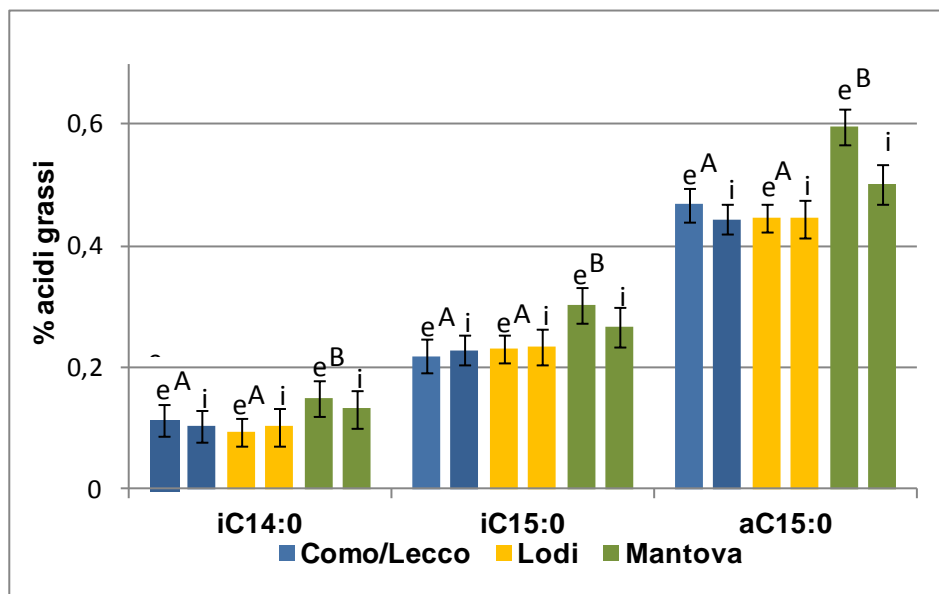


Figura 1 - Contenuto in BCFA nel latte dei due prelievi estivo (e) e invernale (i). Lettere diverse indicano differenze statisticamente significative ($P < 0.001$).

Nella frazione idrocarburica non volatile del grasso di latte sono stati riconosciuti idrocarburi lineari, esteri etilici e metilici degli acidi grassi, idrocarburi isoprenici, esteri del colesterolo e del fitolo (Figura 2).

Risultati interessanti sono stati ottenuti dai fiteni, idrocarburi di natura isoprenica, che derivano, secondo gli studi di Body (1977) da trasformazioni del fitolo della clorofilla ad opera dei microrganismi del rumine. In particolare, neofitadiene e 1-fitene derivano dal fitolo per perdita di una molecola d'acqua e idrogenazione seguita da perdita di una molecola d'acqua, rispettivamente.

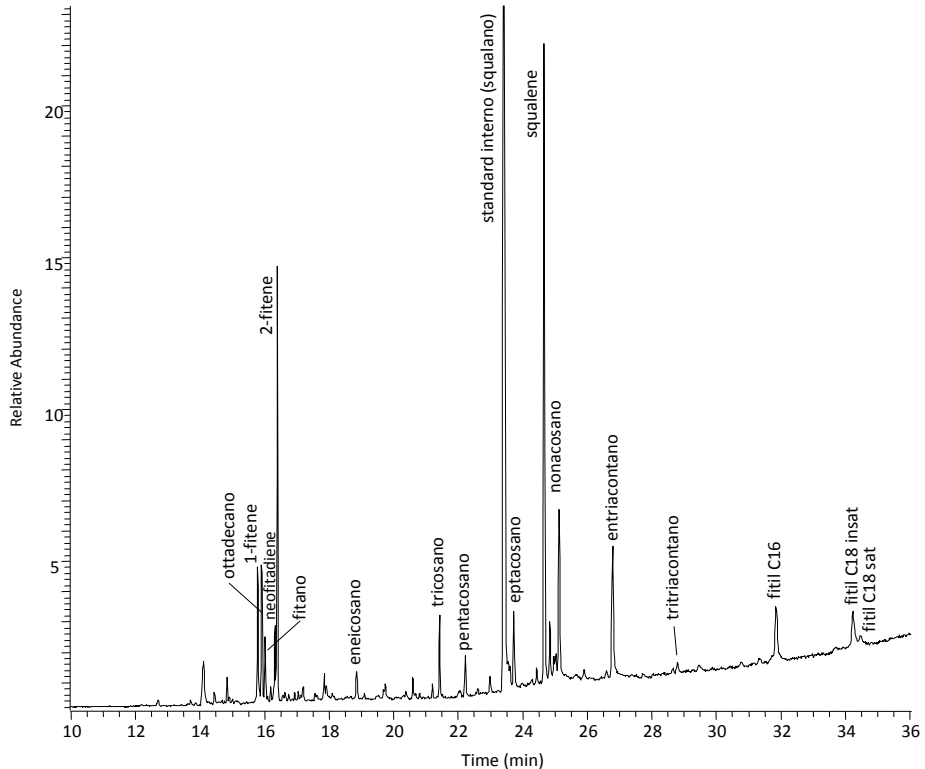


Figura 2 - Profilo GC/MS della frazione idrocarburica non volatile di un campione di latte

Il 2-fitene, invece, sembra che derivi dall'1-fitene, per migrazione del doppio legame. Il fitolo è stato ritrovato anche esterificato ad acidi grassi a lunga catena. L'origine di questi composti potrebbe essere duplice: trasferimento diretto dall'erba, poiché sono stati ritrovati in matrici vegetali (Reiter e Lorbeer, 2001) e/o reazione di esterificazione nel ruminante o nelle cellule della ghiandola mammaria tra acidi grassi liberi e fitolo.

Lo studio condotto in questo lavoro ha messo in evidenza come complessivamente i fiteni, per tutte e tre le zone, siano presenti in quantità più elevata nei latti prelevati nel periodo estivo rispetto a quelli del periodo invernale, con valori più alti nei campioni delle aziende mantovane (Figura 3).

Il dato sicuramente più interessante è quello relativo alla molecola del 2-fitene, che è risultata più elevata, con una differenza altamente significativa ($p < 0.01$), nel latte delle aziende di Mantova rispetto a quello di Lodi e Como/Lecco. Questa molecola, pertanto, sembra essere influenzata dalla presenza di fieno nella razione e indicativa di elevate percentuali di foraggio nella dieta dell'animale.

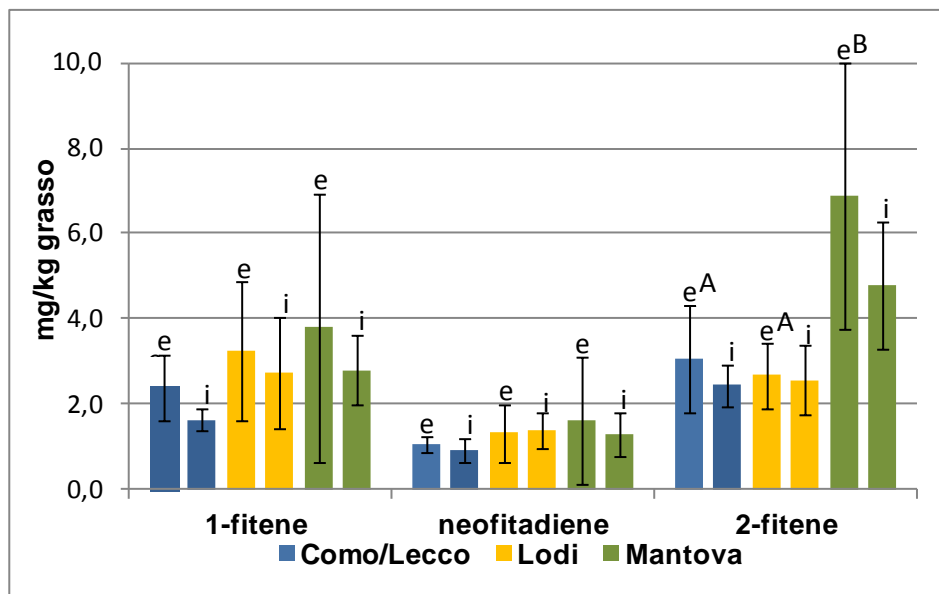


Figura 3 - Contenuto in fiteni nel latte dei due prelievi estivo (e) e invernale (i). Lettere diverse indicano differenze statisticamente significative ($p < 0.01$).

Conclusioni

La presenza di elevate percentuali di fieno nella dieta animale influenza sensibilmente il contenuto in composti minori, quali BCFA e 2-fitene. I risultati ottenuti suggeriscono come l'aumento della quantità di foraggio, tracciabile attraverso la frazione idrocarburica non volatile, possa migliorare le caratteristiche nutraceutiche del latte dove non sia possibile praticare il pascolamento.

Ringraziamenti

Sperimentazione condotta nell'ambito del progetto di ricerca: "Individuazione di modelli di aziende zootecniche per produzioni di eccellenza di latte e derivati - EULAT" finanziato con il Programma Regionale di Ricerca in campo agricolo 2010-2012 di Regione Lombardia.

Bibliografia

Body D.R., 1977. *Characterization of bovine rumen liquor isoprenoid hydrocarbons with reference to dietary phytol*. *Lipids*, 12: 204-207.

- Christopherson S.W. and Glass R.L., 1970. *Preparation of milk fat methyl esters by alcoholysis in an essentially nonalcoholic solution*. Journal of Dairy Science, 52: 1289–1290.
- Larick D.K., Hedrick H.B., Bailey M.E., Williams J.E., Hancock D.L., Garner G.B., Morrow R.E., 1987. *Flavor constituents of beef as influenced by forage- and grain-feeding*. Journal of Food Science, 52: 245–251.
- Parodi P.W., 2008. *Milk lipids: their role as potential anti-cancer agents*. Sciences des Aliments, 28: 44-52.
- Povolo M., Pelizzola V., Ravera D., Contarini G., 2009. *Significance of the non-volatile minor compounds of the neutral lipid fraction as markers of the origin of dairy products*. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 57: 7387-7394.
- Povolo M., Pelizzola V., Lombardi G., Tava A., Contarini G., 2012. *Hydrocarbon and fatty acid composition of cheese as affected by the pasture vegetation type*. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 60: 199-308.
- Reiter B., Lorbeer E., 2001. *Analysis of the wax ester fraction of olive oil and sunflower oil by gas chromatography and gas chromatography-mass spectrometry*. Journal of the American Oil Chemistry Society, 78: 881–888.
- Revello-Chion A, Battelli G., Giaccone D., Peiretti P. G., Tabacco E., Borreani G., 2010. *Seasonal variation of fatty acid in milk of intensive and extensive dairy systems in Northern Italy*. In: Grassland in a changing world. Proceedings of the 23rd General Meeting of the European Grassland Federation, Kiel, Germany, 29th August - 2nd September 2010 pp. 613-615.
- Revello-Chion A., Tabacco E., Battelli G., Righi F., Quarantelli A., Giaccone D., Borreani G., 2012. *Effects of fresh forage inclusion in diet of high performance dairy cows on milk production and composition*. In: Grassland - a European resource? Proceedings of the 24th General Meeting of the European Grassland Federation, Lublin, Poland, 3-7 June 2012 pp. 405-407.
- Urbach G., Stark W., 1975. *The C-20 hydrocarbons of butterfat*. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 23: 20–24.
- Vlaeminck B., Fievez V., Cabrita A.R.J., Fonseca A.J.M., Dewhurst R.J., 2006. *Factors affecting odd- and branched-chain fatty acids in milk: A review*. Animal Feed Science and Technology, 131: 389–417.
- Wongtangintharn S., Oku H., Iwasaki H., Toda T., 2004. *Effect of branched-chain fatty acids on fatty acid biosynthesis of human breast cancer cells*. Journal of Nutritional Science and Vitaminology, 50: 137–143.
- Yang Y., Shangpei L., Chen X., Chen H., Huang M., Zheng J., 2000. *Induction of apoptotic cell death and in vivo growth inhibition of human cancer cells by a saturated branched-chain fatty acid, 13-Methyltetradecanoic acid*. Cancer Research, 60: 505–509.

