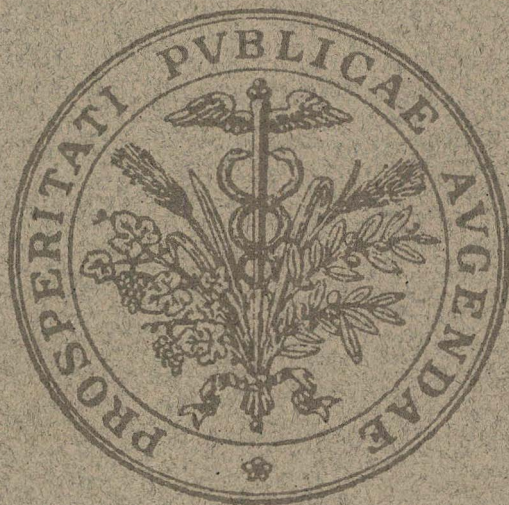


I GEORGOFILI

Quaderni
2002-I



LATTE E CARNE DEI RUMINANTI: COMPONENTE LIPIDICA E SALUTE UMANA

Firenze, 2002

SOCIETÀ EDITRICE FIORENTINA

I GEORGOFILI

Quaderni
2002-I



Giornata di Studio

LATTE E CARNE DEI RUMINANTI: COMPONENTE LIPIDICA E SALUTE UMANA

Firenze, 6 marzo 2002

SOCIETÀ EDITRICE FIORENTINA

Copyright © 2002
Accademia dei Georgofili
Firenze
<http://www.georgofili.it>

Proprietà letteraria riservata

Supplemento a «I Georgofili. Atti dell'Accademia dei Georgofili»
Anno 2002 - Settima Serie - Vol. XLIX (178° dall'inizio)

Responsabile redazionale: dott. Paolo Nanni

Servizi redazionali, grafica e impaginazione
SOCIETÀ EDITRICE FIORENTINA
Via G. Benivieni 1 - Firenze
Tel. 055 5532924
Fax: 055 5532085
e-mail: info@sefeditrice.it
www.sefeditrice.it

INDICE

PIERLORENZO SECCHIARI, MARCELLO MELE, ANDREA SERRA, FEDERICA PAOLETTI <i>Le frazioni lipidiche del latte e della carne dei ruminanti</i>	7
ARIANNA BUCCIONI, FRANCESCO PETACCHI, MAURO ANTONGIOVANNI <i>Attività ruminanti e presenza di acidi grassi trans e di CLA nei lipidi del latte e della carne</i>	97
MARCELLO MELE, ANDREA SERRA, MARCO MANZO, FEDERICA PAOLETTI, PIERLORENZO SECCHIARI <i>La sintesi endomammaria di CLA nei ruminanti</i>	129
MAURO ANTONGIOVANNI, ARIANNA BUCCIONI, MARCELLO MELE <i>Strategie nutrizionali per il miglioramento della frazione lipidica degli alimenti di origine animale</i>	159
ELISABETTA MURRU, ELISABETTA ANGIONI, GIANFRANCA CARTA, MARIA PAOLA MELIS, SEBASTIANO BANNI <i>Apporto alimentare di CLA e valutazione degli effetti della loro attività biologica in modelli animali e nell'uomo</i>	187
PIERLORENZO SECCHIARI, <i>Conclusioni</i>	205

PIERLORENZO SECCHIARI*, MARCELLO MELE*,
ANDREA SERRA*, FEDERICA PAOLETTI*

LE FRAZIONI LIPIDICHE DEL LATTE E DELLA CARNE DEI RUMINANTI

Nel 1991 J.F. Webster pubblicò un saggio, che costituisce l'ultimo contributo scientifico originato dal lavoro comune con K.L. Blaxter, dal titolo *Animal production and food: real problems or paranoia?*. Al di là del contenuto dell'articolo, che nella parte più importante contesta la generica relazione tra consumo di grassi animali e malattia coronarica dell'uomo, desideriamo iniziare con la citazione di quel titolo, perché esso racchiude la finalità di questa giornata.

Vogliamo infatti discutere sugli apporti lipidici alla dieta umana provenienti dal latte e dalla carne dei ruminanti, senza pregiudizi, ma riflettendo sui dati della ricerca, molto attiva in questi anni, per avere una ponderata valutazione di questi alimenti.

A loro favore sta, anzitutto, la plurimillenaria adozione quali componenti della dieta umana. Per il latte, infatti, non solo è stato recentemente ribadito che esso costituisce la più importante delle produzioni animali, in riferimento a quello vaccino, con una valenza però che si può estendere a tutti i tipi di latte, ma anche uno sguardo alla sua storia avvalorava il suo ruolo nell'alimentazione umana. Piero Camporesi (1993), nel suo saggio *Le vie del latte*, evidenzia, infatti, che nell'antichità tutta l'Europa, da quella "barbara" alto-germanica e scandinava, al mondo latino mediterraneo (ove olio di oliva e cereali costituivano però valide alternative ai latticini), all'est balcanico e slavo e allo sterminato territorio che va dalla Vistola alla Grande Muraglia, confine tra i popoli lattofili e quelli dell'E-

* Dipartimento di Agronomia e Gestione dell'Agroecosistema, Settore Scienze Zootecniche, Università degli Studi di Pisa

stremo Oriente, refrattari se non ostili a latte, burro e formaggi, si muoveva e «navigava in un mare di latte».

E anche «nei paesi del Medio-Oriente, nei grandi spazi indo-irani, in larghe zone del continente africano (dai nomadi berberi, all'Egitto, all'Etiopia, alla Nigeria), «l'alimento perfetto» è stato protagonista, nutrendo popoli, muovendo carovane, ispirando cosmogonie, contribuendo a creare grandiose metafore bibliche (la terra di Canaan, ove scorrevano latte e miele)» (Camporesi, 1993).

I lattini vaccino, caprino, ovino, sono dunque, da epoche lontane, alimenti basilari in Europa, nel Medio-Oriente, in Persia, in India, nei territori degli antichi regni africani.

Il loro uso ha assunto nel tempo un ruolo terapeutico; il latte, infatti, fluido bianco partecipa delle proprietà dell'acqua, che purifica, feconda, guarisce, ringiovanisce: «vita est per humiditatem», sentenziava Aristotele; al contrario gli *alibantes*, i disidratati, i rinsecchiti erano simboli di morte. La nobiltà del latte nasceva anche dall'antica credenza, universalmente condivisa sia dal pensiero «selvaggio» sia da quello scientifico pre-moderno, che fra sangue e latte l'unica diversità consistesse solo nel colore. Questa affinità tra il rosso fluido, «pascolo e tesoro della vita umana» e il latte «sangue bianco» (reso di tale colore in quanto *concoctus* dal calore del corpo), straordinario fattore di crescita nei primi anni della vita ed elisir benefico nell'ultima stagione dell'uomo, ne consacra la fortuna.

Alla fine del XV secolo il maestro dello studio patavino e medico dei duchi d'Este Giovanni Michele Savonarola, consigliava i lattini dolci, che «ad usum Christianorum, veniunt tantum». Latte, in particolare di asina, raccomandava Francesco Redi ai suoi pazienti; dieta lattea anche per i sani suggeriva il teorico settecentesco del «vitto pitagorico», cioè vegetariano, il suo allievo Antonio Cocchi.

Friederich Hoffmann (Halle, 1660-1742) lo definisce «princeps alimentorum» e aggiunge che ogni tipo di latte è da considerarsi «saluberrima et optima medicina» (Camporesi, 1993).

Latte in funzione di nutrimento, latte nel ruolo di medicamento, quasi a prefigurare il concetto ad esso attualmente applicato di alimento funzionale che, cioè, nutre e fa bene alla salute.

Queste proprietà complessive del latte sono compendiate dallo studioso bolognese, con tono appassionato e quasi dannunziano, nella definizione del latte «quale alimento vivente e vitale, linfa pre-

ziosa della pianta uomo, variante metaforica del sangue, atto a nutrire le menti dei sapienti come Pitagora e i corpi giganteschi dei Ciclopi, grandi consumatori di latticini e formidabili bevitori di latte oltre che di vino, secondo la tradizione classica che vede i due gloriosi liquidi armonizzarsi e completarsi in equilibrato e positivo connubio» (Camporesi, 1993).

Nella storia di questo alimento, l'unica dissonanza è quella che individua nell'assunzione prolungata di latte bovino da parte dei bambini una loro predisposizione ad una probabilissima ottusità, ad un carattere sottomesso e bovino. Questa credenza, che derivava in larga parte dalla assolutizzazione del concetto che l'uomo fosse ciò che mangiava, anche dal punto di vista psicologico e intellettuale, ha avuto molti assertori nel corso dei secoli, fino ad essere accolto anche nell'Enciclopedia di Diderot e D'Alembert, per perdurare in seguito fin quasi ai nostri giorni. Oggi noi sappiamo che il latte contiene esorfine (peptidi oppiacei di origine esogena) che, analogamente alle endorfine, inducono torpore e sedazione come tipicamente si ha nei lattanti dopo la poppata. Di qui ad attribuire al latte gli effetti sopra ricordati, il passo è lungo; comunque potrebbe essere una prima spiegazione di ciò che rischiava di apparire solo una curiosità storica e il segno di come certi luoghi comuni si radichino nel sentire popolare.

Il ruolo nutrizionale del latte e quello di materia prima nella trasformazione sono consolidati e una società sempre più attenta alla qualità, accanto al latte vaccino, ovino, caprino e di bufala, sta oggi riscoprendo le qualità dietetiche di un latte, come quello di giumenta, a riprova della vastità degli interessi che tale alimento suscita.

Così come il latte bovino od ovino può diventare nutrimento terapeutico se arricchito in iodio, aggiunto alla razione degli animali, da cui passa nel secreto mammario, rendendolo idoneo all'uso, come alimento diretto o attraverso i prodotti di trasformazione, per la prevenzione del gozzo endemico (Secchiari et al., 2000) o se, esaltando naturalmente la presenza di componenti positivi per la salute umana, se ne aumenta l'importanza nell'ambito di una dieta corretta e funzionale.

Differente, ma non meno ricca di osservazioni, è la vicenda del ruolo della carne nella dieta umana. Storicamente il consumo di carne risale ai tempi dell'uomo cacciatore e, infatti, la cacciagione

(volatili e ungulati selvatici) è stata nel corso dei secoli ornamento delle tavole dei ricchi e aspirazione ambita dei meno fortunati. Un ruolo importante, dopo la sua domesticazione, è stato quello del suino, il cui consumo si è affiancato a quello della specie selvatica affine: il cinghiale.

Al tempo dell'antica Roma, infatti, quella suina era la carne più diffusa e da essa si ricavano già prosciutto, lardo e salsicce. La carne bovina era meno usata e ciò permarrà a lungo anche nelle epoche successive, a causa del ruolo che il bovino aveva per il lavoro nei campi. Capre e pecore erano soprattutto allevate per la produzione di latte e per i latticini che ne derivavano; l'utilizzazione di capretti e agnelli rappresentava uno sfruttamento secondario di queste specie.

Molto diffuse erano le galline, che servivano soprattutto alla produzione di uova, ma fornivano anche carne per le mense sia dei potenti, sia del popolo. Ma è soprattutto nell'Alto Medioevo che la carne si impone con forza; anzitutto si affermano le coltivazioni, il bosco viene utilizzato per la caccia e parte di esso viene destinato alla pastorizia e all'allevamento dei suini. A prova dell'importanza di questa specie, vediamo che l'estensione di una foresta è misurata in relazione ai maiali che è in grado di ingrassare. Questo attesta che la specie suina è ancora al centro dello scenario dei consumi carnei, insieme sempre con la piccola e la grossa selvaggina.

Gli ovini vengono invece allevati ancora per la produzione di latte da trasformare in latticini: la pecora è considerata soprattutto animale da vita e la carne che dà è quella degli animali a fine carriera e dei montoni, oltre che degli agnelli che non vengono utilizzati per l'allevamento.

L'arretramento delle foreste, la cui estensione si riduce, e lo sviluppo dell'allevamento bovino, si inseriscono nel Basso Medioevo in una società rurale, con l'allevamento dei suini che diviene di tipo familiare e con l'affacciarsi di altre carni (bovine e ovine), preferite dagli abitanti delle città (Capatti e Montanari, 1999).

Il consumo di carni di vitello in Italia si è affermato in tempi precedenti rispetto agli altri paesi europei.

Agli inizi del '400 Lorenzo Sassoli, medico del mercante di Prato Francesco Datini, gli consiglia usare «le tortole (tortore) perché hanno singolare virtù nel confortare la memoria e' sentimenti» e poi

la «vitella, perché, compensando ogni sua virtù, non potreste usare per uno cibo la più sana vivanda».

Vitella, pollastri e altri volatili, sono la base dei banchetti italiani, anche se, come verrà confermato più tardi da un'osservazione di Montaigne, la cucina della nostra nazione non aveva costume di utilizzare per la preparazione delle vivande grandi quantità di carne, come avveniva negli altri Paesi europei (Capatti e Montanari, 1999).

Fra il XIV e il XV secolo comincia ad ampliarsi il consumo delle carni bovine, e ciò continua anche nel Seicento con un'utilizzazione che più che legata ai tagli, poiché le frattaglie erano molto apprezzate, adottava come criterio di scelta il tipo di animali usati. Manzo e vitella diventano carni di élite, che compaiono sulle tavole dei più abbienti, mentre la mensa dei poveri vede la carne di bue solo nelle feste principali, dato che l'ordinarietà dei consumi è basata sul maiale allevato familiarmente e sulla carne ovina. Infine c'era il pollame domestico, almeno per chi l'aveva.

Occorre sottolineare che la carne è stata comunque sempre considerata un cibo importante; questo è attestato dalla proibizione del suo uso in vari periodi (venerdì, quaresima, per i cristiani), in quanto serviva a togliere dal consumo un alimento desiderato e pregiato, la cui sostituzione con verdure, latticini e pesce costituiva una mortificazione.

Andando ai tempi recenti, si può agevolmente constatare che nel nostro Paese il consumo di carni si è esteso e ampliato dall'ultimo dopoguerra in poi. Il progresso sociale degli italiani ha visto fra i suoi fattori anche il cambiamento delle abitudini alimentari in strati sociali sempre più ampi, e il dilatarsi dell'uso delle carni.

Oggi siamo in una fase che possiamo definire post-moderna anche rispetto alle scelte alimentari, con una contrazione dei consumi, soprattutto di carne bovina, legata a varie cause.

Anzitutto, in una società sempre più sazia come quella occidentale, si sono cominciati a porre i problemi delle relazioni, vere o presunte, fra consumo di carni e salute umana con conseguenze quasi sempre negative, poiché si sono correlati i tumori dell'apparato digerente all'alimentazione carnea e all'apporto di grassi di origine animale, pericolosi poi anche per la funzione cardio-circolatoria.

Infine, l'emergenza BSE, che ha segnato il punto più alto di difficoltà per le carni bovine. Attualmente a questo proposito si sa che la

causa principale della sua diffusione è stato l'impiego di farine di carne contaminate dal prione patogeno; per il resto la ricerca continua a lavorare allo scopo di raggiungere ulteriori conoscenze e di ottenere strumenti diagnostici (tests su animali in vita) e terapeutici validi.

Nel frattempo il principio di precauzione porta a non distogliere l'attenzione e a non diminuire l'entità e la qualità dei controlli ancora in atto.

Detto questo, come affermato già in un'altra occasione, riteniamo che, vista la drammaticità della sotto-alimentazione e della fame nel mondo, e alla luce dell'indispensabilità dell'apporto delle produzioni animali (latte e carne) per fronteggiare tali emergenze, non si può proporre semplicisticamente di bandire dall'alimentazione umana la carne, indicandone la "pericolosità" in generale e quella specifica, legata alla BSE, proponendo in alternativa l'uso di fonti proteiche vegetali.

Ciò è errato in termini scientifici, viste le caratteristiche nutrizionali della carne in ordine all'apporto di amminoacidi indispensabili e di micronutrienti e appare una proposta per lo meno ingenerosa di fronte all'emergenza alimentare dei popoli che muoiono per fame (Secchiari e Manzo, 2001).

Dopo questa non breve premessa, in cui i riferimenti storico-culturali si sono uniti a considerazioni di viva attualità, entriamo nel tema specifico della trattazione che ci siamo proposti, che prenderà in esame in termini generali le modalità di sintesi dei lipidi nei ruminanti, il loro contenuto quanti-qualitativo nel latte e nella carne e, infine, i rapporti tra questi alimenti e la salute dell'uomo.

ORIGINE DEI LIPIDI NEI RUMINANTI

I lipidi nei ruminanti hanno una duplice origine: da un lato la via delle fermentazioni ruminali, dall'altro quella delle attività digestive post-ruminali a carico dei lipidi della dieta.

La popolazione microbica del rumine, come è noto, è responsabile della degradazione e della fermentazione dei carboidrati e delle proteine presenti nella dieta e, pertanto, della produzione, a partire dai primi, di acidi grassi volatili (AGV) quali l'acido acetico, l'acido propionico e l'acido butirrico, indicati normalmente come acetato, propionato e butirrato, poiché agiscono come anioni in solu-

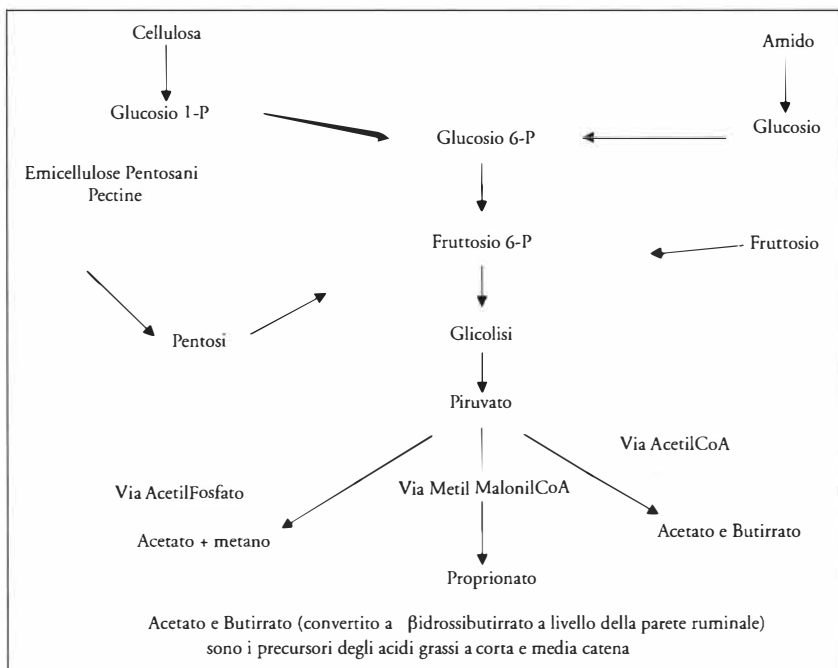


Fig. 1 *Vie metaboliche per la formazione di acidi grassi volatili a livello ruminale*

zione acquosa. In merito a questo processo, quale che siano i carboidrati fermentati (cellulosa, amido, fruttani, pectine, pentosani, emicellulose) il passaggio fondamentale è la formazione di fruttosio-6-fosfato. Da questo, attraverso la via metabolica della glicolisi, si giunge al butirrato, che può andare incontro a tre diversi destini metabolici: la via dell'acetil-fosfato, che conduce alla produzione di acetato e metano; la via del metilmalonil-coenzima A, che porta alla produzione del propionato e la via dell'acetil-coenzima A, che porta alla formazione di acetato e butirrato (fig. 1). L'acetato e il butirrato (preventivamente convertito in 3-idrossibutirrato a livello delle pareti ruminali) sono i precursori degli acidi grassi a media e corta catena del latte e del tessuto adiposo (Chilliard et al., 2000).

I lipidi nel rumine non sono usati come substrati fermentativi, ma gli acidi grassi insaturi vanno incontro ad una massiccia idrogenazione (Antongiovanni e Gualtieri, 1998). I lipidi che arrivano al duodeno, invece, sono composti in larga parte da acidi grassi liberi

(FFA) di origine alimentare e microbica, protonati a causa del pH acido dell'abomaso, e da piccole quantità di fosfolipidi microbici, adsorbiti sulle particelle alimentari. Nel caso in cui la dieta contenga grassi protetti, possono giungere nell'intestino trigliceridi interi, associati al materiale solido.

La digestione dei lipidi avviene in un *medium* bifasico costituito da una fase particellare alla quale aderiscono gli acidi grassi liberi ed i fosfolipidi e da una micellare contenente gli acidi dissolti. Il trasferimento degli FFA alla fase micellare avviene gradualmente con il procedere del bolo lungo il tratto intestinale. Il 5% del trasferimento avviene nel duodeno, il 20% nella parte superiore del digiuno, il 25% nel medio e basso digiuno ed il 50% nell'ileo (Bauchart, 1993).

Il meccanismo mediante il quale gli acidi grassi vengono rilasciati prevede il coinvolgimento di detergenti polari. La secrezione della bile favorisce l'interazione degli acidi grassi con i fosfolipidi biliari e l'acqua, formando una fase "liquido-cristallina". Con l'aumentare del pH, questa fase si disperde in micelle vere e proprie la cui solubilizzazione è stimolata dalla conversione dei fosfolipidi biliari in lisofosfolipidi per azione dell'enzima pancreatico fosfolipasi A2. In questo modo è reso possibile il successivo assorbimento degli acidi grassi attraverso i villi intestinali.

I trigliceridi (TG), invece, presenti nel bolo in conseguenza dell'uso di lipidi protetti nella razione, vanno a costituire una fase oleosa e, per azione delle lipasi pancreatiche, vengono idrolizzati a FFA e a monoacilgliceroli (fattori importanti nella solubilizzazione delle micelle di FFA). Poiché le lipasi agiscono a pH ottimale intorno a 7.5, l'idrolisi dei TG non avviene prima che il bolo abbia raggiunto il tratto mediale del digiuno (Bauchart, 1993).

Nelle cellule della mucosa intestinale dei monogastrici, gli FFA vengono esterificati con i 2-monogliceridi, provenienti dalla idrolisi intestinale dei trigliceridi alimentari, per formare nuovi di e trigliceridi. Questa via metabolica esiste anche nei ruminanti, ma è limitata dalla bassa quantità di trigliceridi che riesce ad oltrepassare la barriera ruminale; la via preferenziale, pertanto, è quella dell' α -glicerofosfato in cui il glucosio è il precursore della glicerina usata per l'esterificazione degli acidi grassi. Solo nel caso di diete contenenti lipidi protetti, la quantità di trigliceridi che raggiunge l'intestino è tale da rendere significativo il contributo della via dei 2-monogliceridi.

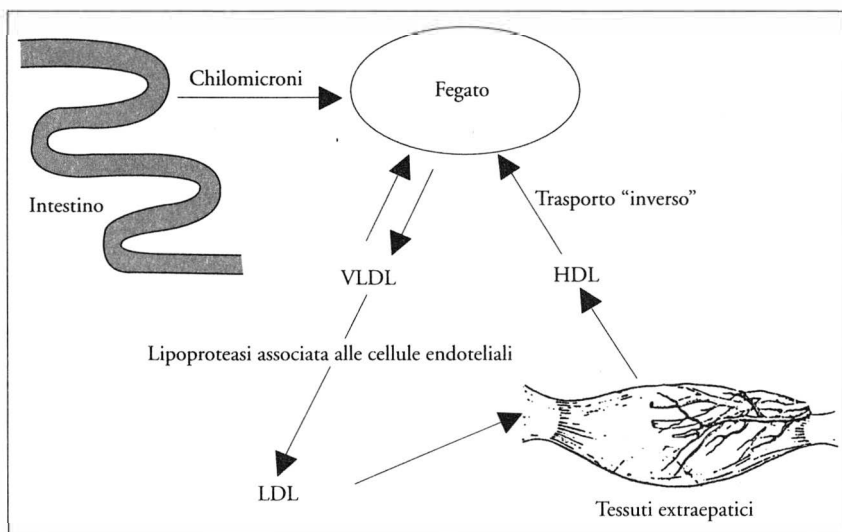


Fig. 2 Il trasporto del colesterolo e dei trigliceridi

I trigliceridi, i rimanenti monogliceridi, i fosfolipidi, il colesterolo e specifiche apoproteine vengono assemblati in chilomicroni all'interno delle cellule della mucosa intestinale ed espulsi negli spazi intercellulari da dove vengono drenati tramite il sistema linfatico (fig. 2). Fanno eccezione gli acidi grassi con meno di 14 atomi di carbonio, che accedono direttamente come NEFA al sangue per poi venire ossidati rapidamente. I chilomicroni vengono smontati a livello epatico e gli acidi grassi che ne derivano sono utilizzati in vario modo (ossidazione, desaturazione, allungamento, riesterificazione e successivo assemblaggio con lipoproteine a varie densità).

Gli acidi grassi trasportati nel plasma all'interno di chilomicroni e lipoproteine ad alta, bassa e molto bassa densità (HDL, LDL, VLDL) raggiungono la ghiandola mammaria e gli altri tessuti, dove vengono utilizzati per la formazione del grasso (Bauchart, 1993). Contrariamente a quanto avviene per tutti gli altri nutrienti assorbiti a livello intestinale, i lipidi che entrano nel torrente circolatorio sotto forma di lipoproteine provenienti dalla mucosa intestinale, possono essere prelevati direttamente dai tessuti adiposi e dal tessuto ghiandolare mammario anche senza essere preliminarmente processati dal fegato.

Le biosintesi dei lipidi contenuti nel tessuto adiposo e nel grasso del latte interessano sia gli acidi grassi che derivano dalla dieta sia quelli sintetizzati *de novo* a partire dall'acetato.

Nei ruminanti, contrariamente a quanto avviene nei monogastrici e dunque anche nell'uomo, è il tessuto adiposo, anziché il fegato, il cui metabolismo è orientato verso la sintesi di glucosio, il sito maggiormente attivo per la sintesi degli acidi grassi; fanno eccezione gli animali in lattazione per i quali è la ghiandola mammaria a svolgere la maggior attività biosintetica (Vernon et al., 1988).

Gli acidi grassi originano da due diversi meccanismi: la sintesi citoplasmatica, che è la via principale e tipica di tutti i tessuti ad intensa attività metabolica e la sintesi mitocondriale, meno intensa, che perfeziona la sintesi citoplasmatica. In particolare, la sintesi degli acidi grassi con catene fino a 16 atomi di carbonio avviene nel citoplasma attraverso un processo metabolico che coinvolge due enzimi chiave: l'acetil-CoA-carbossilasi (ACC) e la sintasi degli acidi grassi (FAS) (Chilliard et al., 2000). In pratica l'ACC catalizza la formazione di malonil-CoA dall'acido acetico, mentre il FAS la condensazione ciclica del malonil-CoA con molecole di acetato e/o β -idrossibutirrato (Barber et al., 1997). Da qui, per successive condensazioni, nella ghiandola mammaria, a differenza di quanto avviene in altri tessuti, l'allungamento della catena può proseguire fino alla formazione di acidi grassi a 14 o 16 atomi di carbonio, ma l'acido palmitico (C16:0) non può essere convertito ad acido stearico (C18:0) (Moore e Christie, 1981).

Negli altri tessuti subentra la sintesi mitocondriale e, a livello dei mitocondri stessi, l'acido palmitico può essere allungato fino ad arrivare a catene con 22 atomi di carbonio. Nei microsomi gli acidi grassi possono essere sia allungati che desaturati, nel caso abbiano almeno 18 atomi di carbonio.

Gli acidi grassi preformati a media e a lunga catena (con 16 atomi di carbonio o più) provenienti dai lipidi della dieta o dalla mobilitazione delle riserve corporee e circolanti nel plasma sanguigno, possono essere utilizzati dai tessuti tramite il prelievo diretto dal torrente circolatorio degli acidi grassi non esterificati (NEFA) e/o di

quelli contenuti nei chilomicroni e nelle VLDL, previa azione dell'enzima lipoproteinlipasi (LPL).

Il prelievo mammario di queste lipoproteine è di norma correlato con la loro concentrazione ematica (Gagliostro et al., 1991), fino a valori pari a 0.4mM/ml, allorché l'attività dell'LPL diventa limitante (Baldwin et al., 1980). Benché non possano sintetizzare acidi grassi a catena più lunga di 16 atomi di carbonio, le cellule della ghiandola mammaria, mediante l'enzima Stearoil-CoA desaturasi (SCD), che introduce un doppio legame in posizione $\Delta 9$ della catena carboniosa, riescono a convertire una notevole quantità di acido stearico in acido oleico (Kinsella, 1972).

Gli acidi grassi essenziali (acidi linoleico e α -linolenico), che sono assorbiti a livello intestinale praticamente inalterati, possono essere desaturati ed elongati e, in particolare, sono i precursori degli acidi grassi polinsaturi a lunga catena delle serie n-3 ed n-6; l'acido α -linolenico è precursore della serie n-3, mentre l'acido linoleico della serie n-6. I loro metaboliti, inoltre, sono coinvolti nella biosintesi di composti biologicamente attivi (fig. 3). L'acido linoleico è presente soprattutto negli oli vegetali e costituisce rispettivamente il 77% e il 56% degli acidi grassi presenti nell'olio di cartamo e in quello di semi di soia. L'acido linoleico è un importante componente strutturale della membrana cellulare ed è, come detto precedentemente, il precursore di acidi grassi costituiti da catene di maggiore lunghezza, che vengono trasformati in prostaglandine, trombossani e prostacicline di tipo 1 e 2.

Gli acidi grassi sintetizzati e quelli provenienti dalla dieta vengono utilizzati nella ghiandola mammaria e nei tessuti adiposi per la sintesi dei trigliceridi e dei fosfolipidi e, inoltre, possono andare ad esterificare anche una certa quantità di colesterolo (nel latte circa il 15% del colesterolo totale; Bracco et al., 1972).

IL COLESTEROLO

Struttura chimica, biosintesi e degradazione

Nei mammiferi il colesterolo rappresenta un importante lipide che svolge un ruolo fondamentale ai fini del mantenimento del-

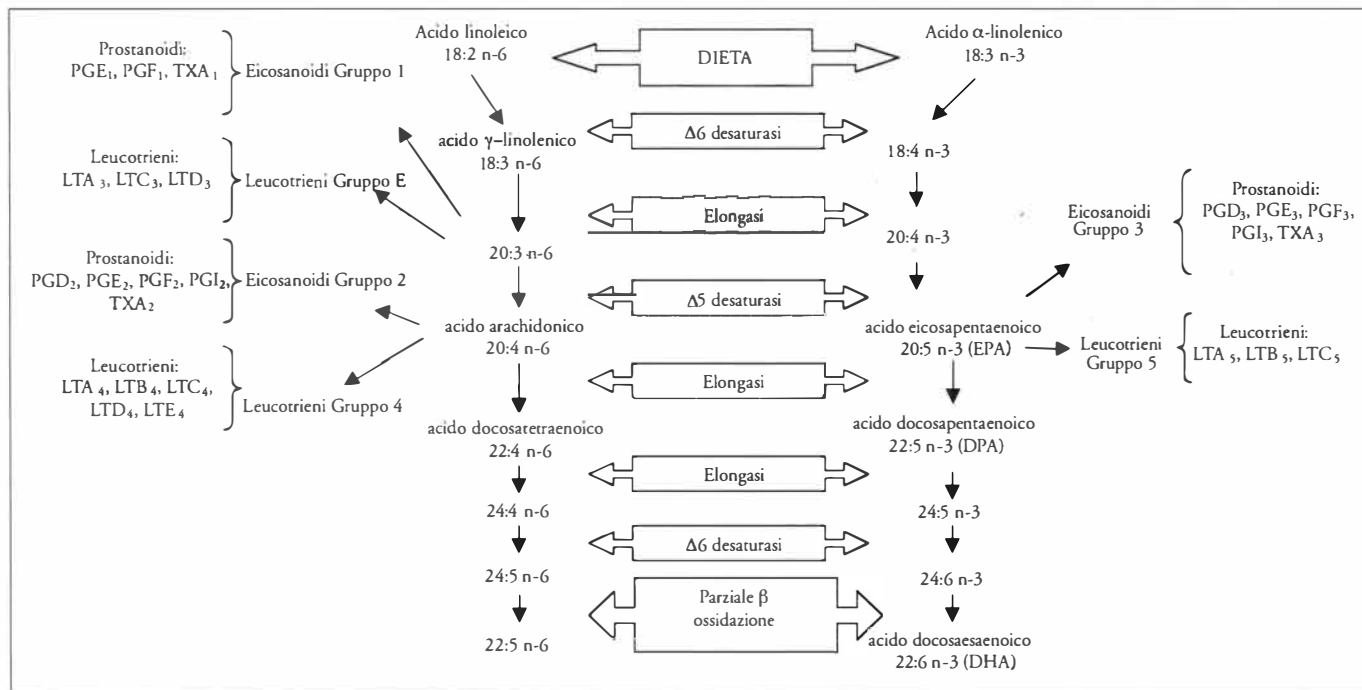


Fig. 3 Metabolismo degli acidi grassi: la sintesi degli acidi grassi n-3 e n-6

l'integrità delle membrane cellulari, di cui regola la fluidità e la permeabilità, e della produzione degli ormoni steroidei e degli acidi biliari, di cui è un precursore (Grundy S.M., 1994; Yokoyama, 2000).

Il colesterolo viene prodotto nella maggior parte dei tessuti, ma principalmente a livello del fegato e della mucosa intestinale. Il meccanismo biosintetico, che origina dall'acetato e che consta di una serie di circa 20 reazioni, è brevemente riassunto di seguito.



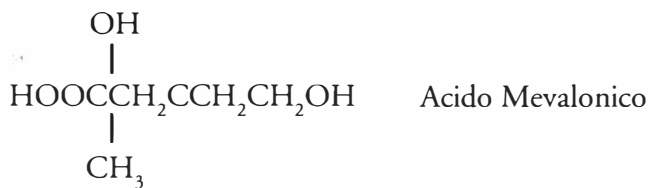
L'acetato viene condensato in acetoacetato per azione di una Acetil-CoA-Tiolasi



L'acetoacetato, per azione della Idrossimetilglutaril-CoA-sintetasi, a sua volta si lega a un altro residuo di acetato per formare il β -idrossi β -metilglutaril-CoA (HMG-CoA).



Successivamente, per azione dell'enzima HMG-CoA reduttasi, l'HMG-CoA viene convertito in acido mevalonico; tale passaggio, peraltro, è un punto cruciale nel meccanismo biosintetico e di omeostasi cellulare del colesterolo. Come verrà meglio esposto in seguito, l'inibizione di tale enzima in risposta ad un elevato contenuto di colesterolo libero a livello cellulare, determina una riduzione della sua sintesi (Gibbons et al., 1982; Vance e Van den Bosch, 2000).



L'acido mevalonico viene interessato da una serie di reazioni di condensazione che danno origine a un idrocarburo a catena lineare, lo squalene (Bloch, 1987; Vance e Van den Bosch, 2000) (fig. 4).

Lo squalene subisce poi una "ciclizzazione", generando così uno sterolo, il lanosterolo (Bloch, 1965; Grundy, 1994; Vance e Van den Bosch, 2000) (fig. 4).

Successivamente dal lanosterolo vengono rimossi i gruppi CH_3 , prima quello in posizione 14, da cui deriva il 14-Norlanosterolo, e poi quelli in posizione 4; la prima demetilazione genera il Lofenolo; la seconda, infine, conduce al colesterolo (Vance e Van den Bosch, 2000) (fig. 4).

Il primo prodotto della ciclizzazione dello squalene è, quindi, il lanosterolo; a livello di questo e dei successivi due step biosintetici, con i quali si determina la rimozione dei tre gruppi CH_3 ed il passaggio a colesterolo, si rende necessaria la presenza di ossigeno. Sia la presenza di ossigeno che il passaggio dal lanosterolo al colesterolo, rappresentano un notevole progresso dal punto di vista evolutivo: il lanosterolo non è infatti un buon "sostituto" del colesterolo a livello della membrana cellulare (Bloch, 1979; Bloch 1983). Uno sterolo, infatti, riesce tanto più a "condizionare" le proprietà fisiche della membrana cellulare, quanto meglio questo, dal punto di vista stereochimico, si adatta ed interagisce con i partner fosfolipidici della membrana stessa. Il primo prodotto della ciclizzazione dello squalene, il lanosterolo, è quello che mostra, nei confronti dei fosfolipidi di membrana, l'affinità peggiore, mentre il colesterolo, prodotto finale, è quello che presenta le caratteristiche stereochimiche che permettono la migliore interazione con i partner di membrana.

Tutto questo è molto importante in quanto la sequenza temporale degli stadi dell'evoluzione naturale ha scelto i pathways degli steroli in risposta ad una pressione selettiva che, come forza trainante, aveva il miglioramento della funzionalità della membrana; in

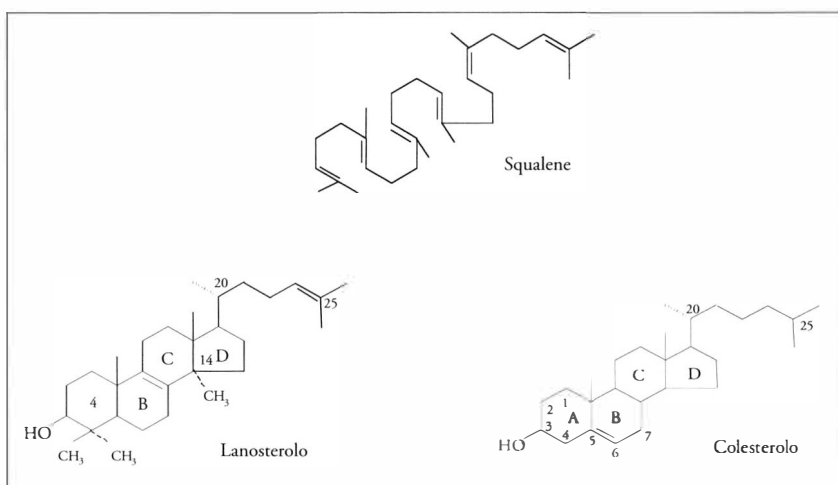


Fig. 4 Formula di struttura dello squalene e di due suoi derivati sterolici

sostanza il colesterolo è risultato lo sterolo “scelto” dal meccanismo evolutivo per la funzionalità della membrana dei mammiferi (Vance e Van den Bosch, 2000).

IL GRASSO DEL LATTE DEI RUMINANTI

Il contenuto di grasso nel latte dei ruminanti varia a seconda della specie (tab. 1) ed è costituito principalmente da trigliceridi (98-99%), fosfolipidi, steroli ed altre sostanze liposolubili (1-2%) (tab. 2).

Le cellule secernenti della ghiandola mammaria sintetizzano i lipidi del latte partendo da un pool di acidi grassi che per il 40% (in peso) viene sintetizzato *de novo* nelle cellule stesse, a partire dall'acetato e dal β -idrossibutirrato (che contribuisce per il 15%) e per il rimanente 60% è costituito da acidi grassi prelevati dal flusso ematico.

I lipidi del latte si trovano sottoforma di globuli sferici che sono secreti dalle cellule dell'epitelio della ghiandola mammaria; tali globuli sono costituiti da un “core” di trigliceridi rivestito da una sottile membrana, nota come “membrana del globulo di grasso” o Milk Fat Globule Membrane (MFGM) (fig. 5). Essi hanno un diametro variabile, a seconda della specie, da 0.1 a 20 μ m (Walstra et al., 1999).

	ACQUA	RESIDUO SECCO	GRASSO	PROTEINE	LATTOSIO	CENERI	VALORE ENERGETICO (Kcal/kg)
<i>Ruminanti</i>							
Vacca	87.62	12.38	3.46	3.43	4.71	0.78	712.6
Bufala	83.59	16.41	7.16	3.77	4.73	0.75	1084.3
Capra	86.77	13.23	4.62	3.41	4.47	0.73	812.1
Pecora	80.48	19.52	7.54	6.17	4.89	0.92	1263.6
Zebù	86.56	13.14	4.90	3.21	4.58	0.75	827.7
Dromedaria	87.83	12.17	4.68	3.31	3.51	0.67	773.7
Lama	86.55	13.45	3.15	3.90	5.60	0.80	745.5
Renna	65.79	34.21	19.73	10.31	2.71	1.46	2570.4
<i>Non ruminanti</i>							
Donna	87.57	12.43	3.38	1.64	6.69	0.22	682.2
Asina	90.39	6.61	1.21	1.74	6.23	0.43	463.3
Cavalla	90.48	9.52	0.85	2.06	6.26	0.35	448.6

Tab. 1 *Composizione chimica e valore energetico del latte di varie specie (da Polidori, 1994)*

LIPIDI	GLOBULO DI GRASSO	MEMBRANA DEL GLOBULO DI GRASSO
Acidi grassi liberi	0.3	6.7
Monogliceridi	-	tracce
Digliceridi	-	8.9
Trigliceridi	98.6	61.7
Fosfolipidi	0.26	22.1
Insaponificabile	0.28	0.89

Tab. 2 *Lipidi dei globuli di grasso e delle loro membrane nel latte di vacca (% dei lipidi totali) (Adattata da Jensen e coll, 1991)*

Tra le specie di maggior interesse zootecnico, quella bovina presenta una dimensione media dei globuli superiore rispetto all'ovina e alla caprina: Mehaia (1995) ha osservato che il diametro medio dei globuli nelle suddette specie varia, nell'ordine, da 3.60 a 5.32 μm , da 3.20 a 4.95 μm e da 3.10 a 4.89 μm . Tali dati trovano conferma in uno studio più recente condotto da Attaie et al. (2000). I globuli aventi un diametro inferiore a 1 μm rappresentano circa l'80% del numero totale ma costituiscono solo una piccola parte del volume di grasso del latte, che risulta invece formato per circa il 90% da globuli con un diametro variabile da 1 a 8 μm (Brunner, 1974). Un latte con una netta prevalenza numerica di globuli piccoli è più ricco di materiale di membrana, a parità di percentuale di grasso, rispetto ad

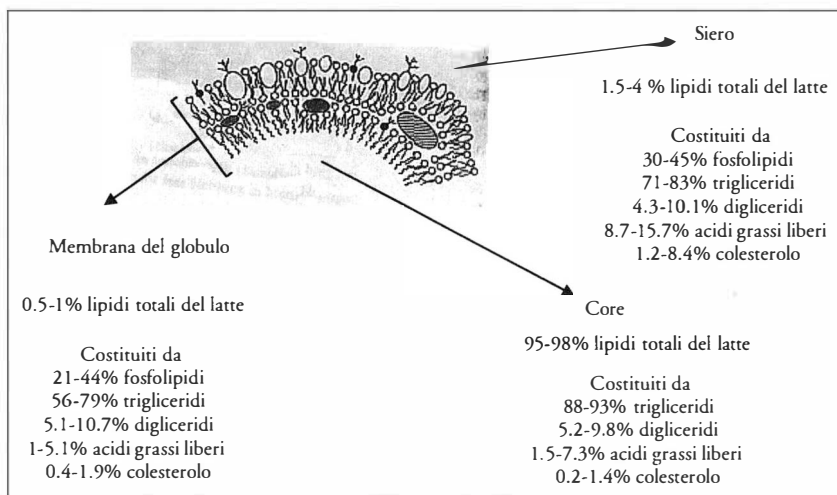


Fig. 5 Schema di sezione longitudinale di una porzione di membrana del globulo di grasso (MGFM), che racciude il "core" di trigliceiridi ed ha all'esterno la frazione sierosa del latte e distribuzione dei lipidi nei tre comporti: membrana, core del globulo e siero del latte

uno in cui prevalgono i globuli grossi. Il loro numero è dell'ordine di 10^{10} - 10^{11} per ml e sviluppano una superficie complessiva variabile da 5 a 11 m² per 100 g di latte (Walstra, 1995).

I precursori dei globuli di grasso del latte sono delle piccole gocce di trigliceridi (diametro $\leq 0.5 \mu\text{m}$) che si originano dal reticolo endoplasmatico rugoso del citosol della cellula alveolare; queste microgocce sono secrete come tali nella zona apicale della cellula oppure si fondono tra loro, dando origine a goccioline di taglia progressivamente crescente man mano che si portano verso la suddetta zona (Deeney et al., 1985; Mather et al., 1998) (fig. 6).

I meccanismi che regolano la fusione e il successivo transito delle goccioline lipidiche non sono stati ancora chiariti, anche se quest'ultimo sembrerebbe guidato da microtubuli e microfilamenti citoplasmatici, che sono elementi abbondanti nelle cellule secrettrici (Nickerson S.C. et al., 1979). Una volta che le goccioline lipidiche raggiungono la zona apicale della cellula alveolare sono gradualmente rivestite dalla membrana plasmatica, fino al completo distacco del globulo nel lume.

In alcuni casi può accadere che nel globulo secreto rimangano fra-

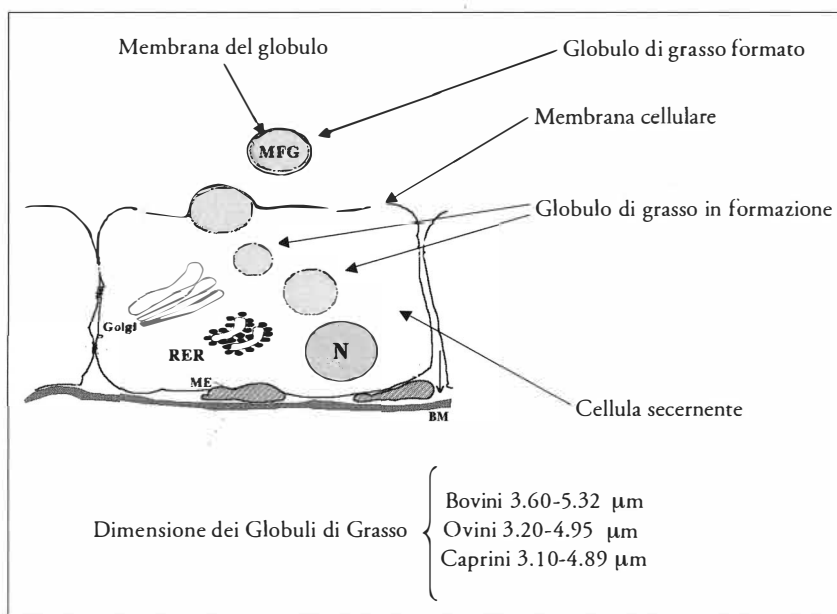


Fig. 6 Processo di secrezione dei globuli di grasso

zioni di citoplasma, i cosiddetti “crescenti” citoplasmatici, che contengono ribosomi, vescicole, mitocondri, frammenti di membrana e altri componenti cellulari. La presenza di “crescenti” è legata alla specie e la loro formazione sembrerebbe dovuta ad una ridotta produzione e non uniforme distribuzione del complesso proteico (costituito principalmente dai polipeptidi butirrofilina e xantina-ossidasi) che lega la membrana plasmatica alla gocciolina lipidica (Huston et al., 1990).

Wooding ed altri autori (Wooding, 1971; Kralj et al., 1992) hanno proposto un meccanismo di secrezione diverso che però deve ancora trovare riscontri sperimentali definitivi: esso prevede la fusione attorno alla gocciolina lipidica delle vescicole secretrici differenziate dall'apparato di Golgi, con conseguente formazione di vacuoli citoplasmatici nella zona apicale della cellula alveolare. Il contenuto di tali vacuoli, formato, oltre che dalla gocciolina lipidica, anche da micelle caseiniche, lattosio, α -lattoalbumina, sarebbe riversato nel lume mediante un meccanismo di esocitosi; così facendo, la membrana delle vescicole secretrici andrebbe in parte a rivestire la gocciolina lipidica e in parte a ricostituire la porzione di

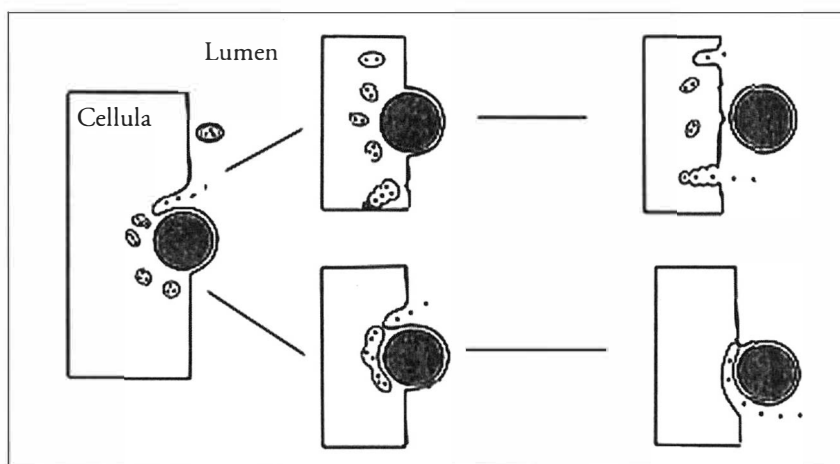


Fig. 7 Schema del meccanismo di formazione della membrana del globulo di grasso (Kanno, 1990)

membrana plasmatica “rotta” al momento della secrezione del globulo (fig. 7). Non è da escludere una combinazione dei due meccanismi (Wooding, 1971; Kralj et al., 1992).

La membrana del globulo di grasso si presenta pluristratificata già al momento dell’estrusione nel lume: vi è un primo strato di fosfolipidi a contatto col core, che è lo stesso che rivestiva la gocciolina lipidica all’interno del citoplasma della cellula alveolare, cui segue un doppio strato rappresentato dalla membrana plasmatica; tra l’uno e l’altro possono rimanere “intrappolati” componenti cellulari (proteine del reticolo endoplasmatico, materiale citoplasmatico, micelle caseiniche, ecc.) e vescicole che si trovano associati in limitate aree della membrana plasmatica (Franke et al., 1979). Nella faccia più esterna del core sono orientati trigliceridi con un elevato punto di fusione (Bauer, 1972); le proteine ed i fosfolipidi sono asimmetricamente distribuiti nel doppio strato della membrana plasmatica.

Dopo la secrezione il globulo di grasso tende a stabilizzarsi mediante un processo di riorganizzazione strutturale a carico dell’MFGM, che comporta la vescicolazione e la frammentazione della membrana plasmatica apicale (Wooding et al., 1975; Peixoto de Menezes et al., 1978; Pinto da Silva et al., 1980; Heid et al., 1983). Più specificatamente, avviene la fusione dello strato più esterno della

membrana plasmatica bistratificata con quello che riveste la goccia lipidica, per effetto di interazioni che interessano la loro frazione lipidica (Ahkong et al., 1975); a ciò si accompagnano “riarrangiamenti” dei componenti della MFGM (Kanno, 1990; Mather, 1998; Danthine et al., 2000). Si genera così un “eccesso” di membrana che si stacca dall’MFGM determinando l’estrusione dei componenti cellulari e delle vescicole rimasti “intrappolati” tra il doppio ed il singolo strato dell’MFGM al momento della secrezione, cui si è fatto riferimento in precedenza. Il distacco di porzioni di membrana dal globulo può essere favorito dai processi cui viene sottoposto il latte durante la lavorazione (agitazione meccanica, riscaldamento, ecc.) (Deeth et al., 1978; Nakanishi et al., 1972). Il materiale perso contribuisce a formare la frazione nota come Skim Milk Membrane (SMM) in cui, nel latte di vacca, sono state però identificate membrane derivanti da altre fonti, tra cui i leucociti (Mather et al., 1983; Anderson et al., 1975). L’MFGM assume così la sua struttura definitiva e i globuli di grasso risultano stabilizzati.

Da quanto detto finora, in riferimento soprattutto al meccanismo di secrezione del globulo proposto da Wooding et al. e alla riorganizzazione strutturale dell’MFGM dopo l’estrusione nel lume, si evince che l’MFGM e la membrana plasmatica sono biochimicamente molto simili ma non identiche. Studi condotti sulla specie bovina hanno evidenziato differenze nella composizione fosfolipidica, con livelli più elevati di sfingomielina e fosfatidilserina nella membrana plasmatica rispetto all’MFGM (Kanno et al., 1982; 1987b), e polipeptidica, con l’assenza nella membrana plasmatica di tre delle sette maggiori glicoproteine evidenziabili nella membrana del globulo di grasso (Huggings et al., 1980; Kanno et al., 1982; 1987 a; Keenan et al., 1989).

L’MFGM costituisce dal 2 al 6% dell’intera massa dei globuli di grasso; tale variabilità è sostanzialmente legata al metodo impiegato per il suo isolamento (Mc Pherson et al., 1983; Walstra, 1985; Keenan et al., 1995). Come le altre membrane biologiche è formata soprattutto da proteine, lipidi e carboidrati, presenti in un rapporto di circa 4:3:1 (Deeth, 1997); la somma dei lipidi e delle proteine rappresenta oltre il 90% del peso secco.

La composizione chimica è influenzata da fattori legati all’animale (specie, razza, stadio di lattazione, stato sanitario della mam-

mella) e da fattori esterni quali l'alimentazione, i processi che il latte subisce durante la conservazione e la lavorazione (raffreddamento, riscaldamento, omogeneizzazione, ecc.) ed il metodo utilizzato per la separazione dal globulo di grasso. La frazione più soggetta a variazioni di composizione è quella dei lipidi neutri, ed in particolare dei trigliceridi.

Le proteine presenti nell'MFGM rappresentano l'1% circa di quelle totali del latte ed il 25-60% del peso secco della membrana stessa (Kanno et al., 1990; Deeth, 1997; Keenan et al., 1983; Danthine et al., 2000). Dai tracciati elettroforetici rilevati con la tecnica dell'elettroforesi su gel di poliacrilammide (SDS-PAGE) risulta che le bande più marcate sono state evidenziate in corrispondenza di 155.000, 67.000 e 44.000-48.000 g/moli. A tali bande corrispondono altrettanti polipeptidi, e precisamente: la xantina-ossidasi, la butirrofilina, che da sola costituisce il 40% circa delle proteine associate alla membrana (Mather et al., 1993, 2000) e la glicoproteina B. La xantina-ossidasi, oltre ad essere coinvolta in processi di ossidoriduzione, sembrerebbe formare un complesso con la butirrofilina; tale complesso faciliterebbe le interazioni tra la gocciolina lipidica citoplasmatica e la membrana plasmatica apicale al momento della secrezione del globulo (Mather et al., 1993; Franke et al., 1981). Per quanto riguarda la glicoproteina B, è utilizzata in medicina umana per la diagnosi dei tumori al seno, in quanto l'espressione di questa proteina sarebbe indicativa per questo tipo di patologia (Danthine et al., 2000). All'MFGM sono associate, inoltre, almeno 25 differenti proteine di natura enzimatica, tra cui la già citata xantina-ossidasi, dalla cui attività dipendono importanti funzioni biologiche (Keenan et al., 1995).

Per quanto riguarda la frazione lipidica dell'MFGM, gli studi sono stati condotti quasi esclusivamente sulla specie bovina, per cui le conoscenze relative alle altre specie da latte di interesse zootecnico (ovina, caprina, bufalina) risultano molto scarse. Nel latte di vacca i lipidi sono così distribuiti: il 95-98% (% sul totale) nel core del globulo, lo 0.5-1% nell'MFGM ed il resto (1.5-4%) nel siero del latte. Il core contiene: 88-93% di trigliceridi, 5.2-9.8% di digliceridi, 1.5-7.3% di acidi grassi liberi (FFA) e 0.2-0.4% di colesterolo; non sono presenti fosfolipidi. Nella membrana si trovano dal 21 al 44% di fosfolipidi; della restante frazione (56-79%) l'83-88% è

rappresentata da trigliceridi, il 5.1-10.7% da digliceridi, l'1-5.1% da FFA e lo 0.4-1.9% da colesterolo. Il 30-45% dei lipidi presenti nel siero del latte è costituito da fosfolipidi, il resto (55-70%) dal 71-83% di trigliceridi, 4.3-10.1% di digliceridi, 8.7-15.7% di FFA e 1.2-8.4% di colesterolo (Huang et al., 1967).

Come già evidenziato, i maggiori costituenti della frazione lipidica dell'MFGM sono i lipidi neutri, i quali sono rappresentati prevalentemente da trigliceridi, che costituiscono dal 47 al 70% del totale dei lipidi di membrana, in base ai valori indicati da Huang et al. e in accordo con altri autori (Chandan et al., 1972; Bracco et al., 1972; Anderson et al., 1975).

Dal confronto tra la composizione acidica dei TG della membrana e quelli del grasso del latte, emerge che i primi sono caratterizzati da una maggior presenza di acidi grassi (AG) saturi a lunga catena (e.g. C16:0 e C18:0) e da un minor contenuto sia di AG a corta catena (C<12) sia di acido oleico (C18:1) ad essi esterificati (Bracco et al., 1972; Kitchen, 1977; Sharma et al., 1987); si parla di trigliceridi ad elevato punto di fusione, cui si è già accennato facendo riferimento alla struttura dell'MFGM. Walstra (1974) ha suggerito che questi TG derivino da lipidi del core del globulo di grasso che contaminerebbero la membrana durante i processi di lavorazione del latte (raffreddamento, burrificazione, ecc.). Studi di spettroscopia all'infrarosso hanno evidenziato che i TG associati alla membrana presentano catene aciliche più rigide rispetto a quelli del core del globulo, e da ciò dipenderebbe la stabilità dell'MFGM (Forrest, 1978).

I fosfolipidi (PL) conferiscono proprietà emulsionanti all'MFGM, in virtù delle porzioni lipofile e idrofile che li compongono; quelli più rappresentati sono: la fosfatidilcolina (~ 35% sul totale dei fosfolipidi presenti nella membrana), la fosfatidiletanolamina (~ 30%), la sfingomieline (~ 25%), il fosfatidilinositolo (~ 5%) e la fosfatidilserina (~ 3%) (Christie, 1995; Keenan et al., 1995). Essi sono disposti in modo asimmetrico nella membrana del globulo: nella parte più esterna sono localizzate la fosfatidilcolina e la sfingomieline, in quella più interna la fosfatidiletanolamina, il fosfatidilinositolo e la fosfatidilserina. (Danthine et al., 2000). Per quanto riguarda la composizione acidica, i fosfolipidi della membrana sono caratterizzati da elevati livelli di acido palmitico ed acido oleico e da scarse quantità di acidi grassi a corta catena (Bracco et al., 1972; Kitchen, 1977).

Gli steroli sono presenti in una quantità non trascurabile nell'MFGM, in quanto rappresentano dallo 0.2 al 5.2% dei lipidi totali della membrana (Huang et al., 1967; Swope et al., 1970); tale dato è confermato dallo studio condotto da Bracco et al. (1972), in cui si parla di 427 mg di steroli/100 g di lipidi totali dell'MFGM. L'80% circa degli steroli si trova in forma libera, il resto come estere. Il colesterolo ed i suoi esteri costituiscono lo sterolo preponderante: Bracco et al. (1972) parlano di 411 mg/100 g di lipidi della membrana.

Partendo da quanto detto sinora a proposito della composizione chimica e della struttura, si ricordano le funzioni della MFGM, in cui particolare rilevanza assumono i fosfolipidi. La membrana del globulo agisce come un'emulsionante naturale, permettendo a molecole idrofobe (i trigliceridi del core del globulo) di rimanere disperse in un ambiente acquoso, il plasma del latte, in virtù dell'orientamento delle porzioni idrofile dei fosfolipidi della membrana (gruppo fosforico e base azotata ad esso esterificato) verso la fase acquosa del latte e delle porzioni idrofobe (le catene aciliche) verso il core del globulo. Una conferma a quanto appena affermato è stata fornita da Shimizu et al. (1980); dai loro studi emerge che l'azione della fosfolipasi C sui fosfolipidi produce una marcata diminuzione della stabilità dei globuli. Thomè et al. (1972) hanno inoltre dimostrato che i fosfolipidi agiscono meglio come emulsionanti e come stabilizzatori di emulsioni se complessati con proteine, come avviene nell'MFGM, in cui tale legame interessa la quasi totalità dei fosfolipidi; ciò, infatti, aumenta l'idrofilicità di queste molecole.

La membrana del globulo (in particolare la frazione fosfolipidica) agisce anche come barriera protettiva per il globulo: la degradazione dei PL di membrana operata dalla fosfolipasi C può determinare, infatti, danni all'MFGM che possono riflettersi in difetti a carico dei prodotti derivati dal latte alterato (Stone et al., 1952).

Il ruolo dei fosfolipidi del latte nei processi di ossidazione risulta piuttosto complesso e dipende dalla natura del mezzo e dalle condizioni di ossidazione (Hamzawi, 1990). Gli acidi grassi esterificati con due dei maggiori PL della membrana, la fosfatidilcolina e la fosfatidiletanolammina, essendo per la maggior parte insaturi (dal 40 al 60% e di questi per circa un terzo polinsaturi), sono facilmente ossidabili e possono quindi produrre aromi indesiderati nel latte (Christie, 1995). Diversi studi, al contrario, hanno evidenziato le

Classe di lipidi	GIORNI DI LATTAZIONE			
	3 (colostro)	7	42	180
Fosfolipidi	0.72	1.06	1.11	0.56
Colesterolo	0.53	0.41	0.46	0.30
Trigliceridi	97.35	97.11	95.80	97.17
Digliceridi	1.01	1.16	2.25	1.72
Monogliceridid	0.26	0.19	0.28	0.18
Acidi grassi liberi	0.06	0.06	0.08	0.03
Esteri del colesterolo	0.05	0.03	0.02	0.04
Grasso (g/dl)	3.45	3.97	3.25	3.13

Tab. 3 *Classi di lipidi del latte di vacca durante la lattazione (% dei lipidi totali)*
(Adattata da Bitman e Wood, 1990)

proprietà antiossidanti dei PL del latte, sia da soli che in sinergia con altre molecole, tra le quali l' α -tocoferolo (Nath et al., 1983).

Da ricordare, infine, che l'MFGM rappresenta una barriera fisica naturale che protegge i trigliceridi del latte dall'azione della lipasi, un enzima naturalmente presente nel latte; in esso, perciò, la lipolisi, che renderebbe i TG più facilmente ossidabili, normalmente non si verifica, se non dopo che il latte è stato sottoposto ad agitazione o omogeneizzazione (Chilliard et al., 1984).

Questa ripartizione delle frazioni lipidiche del grasso del latte vaccino è influenzata sia a livello quantitativo sia a livello qualitativo da un certo numero di fattori di variazione tra i quali la razza, l'individuo, lo stadio di lattazione e la dieta. Con l'avanzare della lattazione, in particolare, è stato osservata una diminuzione del contenuto totale del colesterolo e dei fosfolipidi (Bitman e Wood, 1990). I trigliceridi rimangono pressoché costanti, salvo che in prossimità del picco di lattazione quando fanno evidenziare una flessione significativa (tab. 3).

La descrizione più dettagliata della composizione delle singole frazioni lipidiche consentirà di delineare meglio anche l'influenza degli altri fattori di variazione sulle caratteristiche del grasso del latte.

I TRIGLICERIDI DEL LATTE

Le caratteristiche dei trigliceridi, che costituiscono dal 98 al 99% dei lipidi totali del latte, sono legate alla loro composizione e alla loro

struttura. Entrambi gli aspetti hanno un legame molto stretto con il tipo e la quantità di acidi grassi presenti. La struttura dei trigliceridi riveste un ruolo importante, sia per quanto riguarda le proprietà tecnologiche del latte, sia in relazione alla digeribilità del grasso del latte medesimo. L'azione delle lipasi gastriche e pancreatiche, infatti, risulta più efficace su superfici d'attacco più ampie, che dipendono a loro volta dal grado di emulsione delle micelle di grasso nel tratto enterico e, in ultima analisi, dalla struttura dei trigliceridi. Per comprendere il significato di quest'ultima è necessario conoscere gli acidi grassi che vanno ad esterificare ciascun sito della glicerina (*sn1*; *sn2*; *sn3*).

Nel grasso del latte sono stati identificati circa 400 acidi grassi e, nell'ipotesi che questi si distribuiscano casualmente nell'ambito delle tre posizioni della glicerina, il massimo numero possibile di trigliceridi ottenibile sarebbe pari a 1×400^3 , vale a dire 64 milioni di possibili combinazioni (Jensen et al., 1991). In realtà la distribuzione degli acidi grassi nei trigliceridi non è casuale e consente un numero assai più limitato di combinazioni. Parodi (1989), nel latte bovino, ha identificato 43 tipi di trigliceridi presenti in quantità superiori allo 0.5%. Altre ricerche hanno consentito di identificare un numero più elevato di forme, ma l'ordine di grandezza è rimasto sotto il centinaio (Kuksis et al., 1989). Nel latte di capra sono state individuate 137 specie molecolari di trigliceridi, di cui il 50% del tipo trisaturo, il 30% monoinsaturo e il 20% polinsaturo (Fontecha et al., 2000). Al di là del numero totale delle forme, le caratteristiche strutturali del grasso del latte sono legate al tipo di trigliceride. In particolare, è stato osservato che i trigliceridi più rappresentati nel latte bovino sono *sn*- 16:0-16:0-4:0 (4%) e *sn*- 16:0-16:0-18:1 (3%). Sono presenti in quantità apprezzabili anche trigliceridi completamente saturi quali il *sn*- 16:0-16:0-18:0 (1%) e il 16:0-16:0-16:0 (0.9%). La distribuzione degli acidi grassi nei trigliceridi, inoltre è asimmetrica (tab. 4), infatti il C4:0 esterifica la glicerina solamente in posizione *sn*-3, e anche gli altri acidi grassi a corta catena (dal C6:0 al C8:0) evidenziano una netta preferenza per questo sito (Christie e Clapperton, 1982).

Malgrado appaia evidente che la distribuzione degli acidi grassi nel trigliceride non sia casuale, e che un ruolo importante venga giocato dall'affinità tra l'acido grasso e gli enzimi deputati al suo trasferimento sulla glicerina (le acil-transferasi), non è ancora

ACIDO GRASSO	TRIGLICERIDE	SN-1	SN-2	SN-3
C _{4:0}	11.8	-	-	35.4
C _{6:0}	4.6	-	0.9	12.9
C _{8:0}	1.9	1.4	0.7	3.6
C _{10:0}	3.7	1.9	3.0	6.2
C _{12:0}	3.9	4.9	6.2	0.6
C _{14:0}	11.2	9.7	17.5	6.4
C _{15:0}	2.1	2.0	2.9	1.4
C _{16:0}	23.9	34.0	32.3	5.4
C _{16:1}	2.6	2.8	3.6	1.4
C _{17:0}	0.8	1.3	1.0	0.1
C _{18:0}	7.0	10.3	9.5	1.2
C _{18:1}	24.0	30.0	18.9	23.1
C _{18:2}	2.5	1.7	3.5	2.3
C _{18:3}	tracce	-	-	-

Tab. 4 *Distribuzione posizionale degli acidi grassi nei trigliceridi del latte bovino (moli/100moli) (Adattata da Christie e Clapperton, 1982)*

chiaro quali siano gli esatti meccanismi che regolano tale distribuzione.

Uno degli enzimi chiave di questo processo è l'acil-transferasi dell'acido lisofosfatidico (LPAAT), noto anche come 1-acilglicerol-3fosfato-acil-transferasi, che è responsabile dell'addizione degli acidi grassi al trigliceride in posizione *sn*-2 (Mistry e Medrano, 2002). Questa posizione riveste un ruolo importante poiché durante il processo digestivo nell'intestino dell'uomo, le lipasi pancreatiche attaccano principalmente le altre due posizioni (*sn*-1 e *sn*-3) generando molecole di 2-monogliceridi che vengono assorbite velocemente e in via preferenziale dalle pareti intestinali (Small, 1991). È chiaro, pertanto, che, dal punto di vista nutrizionale, il tipo di acido grasso che si trova in posizione *sn*-2 assume una certa importanza. Per quanto riguarda l'affinità dei differenti acidi grassi per le diverse posizioni di esterificazione sulla glicerina, è stato recentemente dimostrato in bovine da latte che, per la posizione *sn*-2, il C16:0, il C14:0, il C12:0 e il C18:2 hanno una specificità elevata, il C18:3, il C18:0 e il C20:4 intermedia e il C18:1 minima (De Peters et al., 2001). Comunque l'acido grasso che esterifica la glicerina in posizione *sn*-2 con maggior frequenza è l'acido palmitico (32.3%, Christie, 1995); tuttavia esiste la possibilità di modificare questa caratteristica, in favore dell'incorporazione di acidi grassi insaturi, agendo, ad esempio, sulla quantità di substrato disponibile. Un aumento della disponibilità di acidi grassi

polinsaturi a lunga catena in ghiandola mammaria, infatti, comporta una loro maggiore inclusione in posizione *m*-2 al posto di altri acidi grassi saturi con uguale affinità per quel sito. Questo fenomeno confermerebbe quanto proposto per la sintesi dei trigliceridi nelle piante oleaginose (Reske et al., 1997).

Un altro approccio, complementare al precedente, potrebbe essere quello di determinare i fattori endogeni di regolazione dell'espressione del gene per la LPAAT ed agire su questi per modulare l'attività dell'enzima. La caratterizzazione e la localizzazione cromosomica del gene bovino per la LPAAT, realizzata di recente (Mistry e Medrano, 2002), rappresenta sicuramente un primo passo in questa direzione.

I FOSFOLIPIDI DEL LATTE

Nonostante i fosfolipidi siano una componente minoritaria del grasso del latte (circa 1% dei lipidi totali), essi, come evidenziato in precedenza, rappresentano un costituente molto importante della membrana del globulo di grasso. I fosfolipidi vengono sintetizzati a livello della ghiandola mammaria e, al contrario dei trigliceridi, rappresentano siti preferenziali per l'esterificazione di acidi grassi essenziali quali l'acido linoleico (C18:2 *cis*9, *cis*12) e l'acido α -linolenico (C18:3 *cis*9, *cis*12, *cis*15). Essi, inoltre, svolgono il duplice ruolo di stabilizzatori della membrana del globulo di grasso e di agenti emulsionanti. La distribuzione dei fosfolipidi nel latte bovino li vede associati, per una quota che va dal 55-70%, alle gocce di grasso e per il rimanente 30-45% alla frazione magra (Patton e Jensen, 1975). Quest'ultima contiene frammenti provenienti dalla membrana del globulo di grasso, ma anche da altre fonti, quali la porzione apicale delle cellule secrettrici e i leucociti (Anderson et al., 1975).

Le principali classi di fosfolipidi presenti nel latte sono la sfingomieline, la fosfatidilcolina, la fosfatidilserina, il fosfatidilinositolo e la fosfatidiletanolammina (Bitman e Wood, 1990). Di queste le più rappresentate nella membrana del globulo di grasso sono la sfingomieline, la fosfatidilcolina e la fosfatidiletanolammina.

La composizione fosfolipidica del latte, comunque, non è costante durante la lattazione, ma varia sia in quantità sia in qualità

	GIORNI DI LATTAZIONE							
	3		7		42		180	
CLASSI DI FOSFOLIPIDI	MG/DL	% REL.	MG/DL	% REL.	MG/DL	% REL.	MG/DL	% REL.
Sfingomielina	5.8	28.43	11.9	33.62	7.1	28.29	3.9	30.47
Fosfatidilcolina	5.8	28.43	8.9	25.14	6.7	26.69	4.5	35.16
Fosfatidilserina	1.6	7.84	3.0	8.47	2.1	8.37	0.3	2.34
Fosfatidilinositolo	0.8	3.92	1.6	4.52	1.3	5.18	1.5	11.72
Fosfatidiletanolamina	6.4	31.37	10.0	28.25	7.9	31.47	2.6	20.31
Totale	20.4	100	35.4	100	25.1	100	12.8	100

Tab. 5 *Variazione del contenuto di fosfolipidi del latte durante la lattazione (Adattata da Bitman e Wood, 1990)*

(tab. 5). La massima concentrazione di fosfolipidi, infatti, si verifica nelle prime settimane di lattazione, durante le quali si mantiene abbastanza costante, mentre dopo 180 giorni diminuisce di circa la metà del contenuto totale. Questo andamento potrebbe suggerire un incremento delle dimensioni dei globuli di grasso e una diminuzione del loro numero totale con il progredire della lattazione, oppure un assottigliamento delle stesse membrane (Bitman e Wood, 1990). In particolare, il contenuto percentuale di fosfatidilcolina e di fosfatidilinositolo aumenta, mentre quello di fosfatidilserina e di fosfatidiletanolamina diminuisce. Malgrado dopo 180 giorni di lattazione si notino queste variazioni, la composizione della membrana del globulo di grasso, di cui i fosfolipidi sono una componente essenziale, può ritenersi, nel complesso, relativamente stabile.

GLI STEROLI DEL LATTE

Gli steroli sono una frazione minore del grasso del latte; il colesterolo rappresenta la componente maggiore di questa frazione e il suo contenuto varia da 10 a 20 mg/dl di latte. Nel latte di vacca sono state riportate anche piccole quantità di altri steroli quali il 7/deidrocolesterolo, il 2-2-deidrocolesterolo, l'ergosterolo, il fucosterolo, il lanosterolo, il latosterolo e il 2-4-metilenecolesterolo, nonché diversi fitosteroli (Walstra e Jennes, 1984).

Nel latte di capra il contenuto di colesterolo varia da 12.5 a 21.1

mg/dl, mentre gli steroli minori rappresentano lo 0.03-0.05% della frazione sterolica totale (Fraga et al., 2000).

Per quanto riguarda il latte delle altre specie ruminanti, non sono disponibili dati sufficienti relativi al contenuto in colesterolo.

La distribuzione del colesterolo nel globulo di grasso non è uniforme, nella membrana, infatti, la sua concentrazione è circa tre volte quella riscontrabile nel core. Nei prodotti lattiero caseari il contenuto di colesterolo è direttamente relazionabile alla quantità di grasso presente nel latte di origine secondo la funzione (Jensen et al., 1991):

$$y = 6.34 + 2.82x$$

dove y rappresenta i milligrammi di colesterolo in 100g di alimento e x la quantità di grasso totale in 100 g di latte.

GLI ACIDI GRASSI DEL LATTE

La composizione acidica del latte è stata ampiamente studiata da numerosi autori, che hanno evidenziato i principali fattori di variazione genetici ed ambientali che concorrono a modificarla.

L'alimentazione rientra, senza dubbio, fra le cause di variazione più importanti, sia perché condiziona la produzione ruminale di acidi grassi volatili necessari per le sintesi *de novo* della frazione a corta e media catena, sia perché gli acidi grassi che compongono la frazione a lunga catena provengono dai lipidi della dieta. Altrettanto interessanti risultano essere gli aspetti legati alla specie, alla razza e allo stato fisiologico dell'individuo in relazione alla composizione e alle caratteristiche chimiche, nutrizionali e tecnologiche del grasso del latte e, come vedremo, anche di quello della carne dei ruminanti.

Sebbene esistano oggettive difficoltà ad operare un confronto fra le composizioni acidiche del latte delle principali specie di ruminanti (bovina, ovina, caprina e bufalina) utilizzando i dati della letteratura, a causa della grande influenza esercitata dall'alimentazione, dalla tecnica di allevamento e dall'impostazione delle stesse sperimentazioni, è possibile elencare alcune differenze sostanziali sia a

ACIDO GRASSO	VACCA	BUFALA	PECORA	CAPRA
C _{4:0}	3.29	2.83	3.73	3.34
C _{6:0}	2.08	2.14	2.68	3.21
C _{8:0}	1.32	1.29	2.63	3.34
C _{10:0}	3.2	2.47	7.58	12.58
C _{12:0}	4.05	3.09	4.88	6.45
C _{14:0}	12.13	10.35	12.75	12.42
C _{14:1}	1.88	1.62	0.26	0.39
C ₁₅	1.22	1.37	1.56	0.83
C ₁₆	30.74	32.67	26.37	26.02
C _{16:1}	2.11	3.58	0.96	0.56
C ₁₇	0.57	0.77	0.85	0.76
C ₁₈	9.7	9.51	9.09	10.12
Tot. C _{18:1} <i>trans</i>	1.9	-	3.72	2.68
Tot. C _{18:1} <i>cis</i>	19.7	25.16	17.50	15.46
C _{18:2}	3.1	1.82	1.54	2.83
Tot. CLA	0.56	-	1.75	0.57
C _{18:3} n-3	0.6	1.18	1.10	0.35
C ₂₀	0.21	-	0.29	0.11
C _{20:1}	0.05	-	0.05	0.05

Tab. 6 *Composizione acidica del latte delle principali specie di ruminanti (Polidori et al., 1997; Alonso et al., 1999)*

livello della frazione acidica a corta e media catena, sia relativamente a quella insatura a lunga catena.

La composizione acidica del latte di pecora e di capra, rispetto a quella del latte vaccino e bufalino è generalmente caratterizzata da un maggior contenuto di acidi grassi a corta catena (C4-C10) e da più bassi livelli di quelli a media catena (C12-C16), risultando, pertanto, più favorevole in riferimento al ruolo svolto da questi gruppi di acidi grassi per la salute umana (Polidori et al., 1997; Alonso et al., 1999, Secchiari et al., 2001a).

I trigliceridi del latte di capra sono particolarmente ricchi di acidi grassi a corta e media catena in confronto a quelli del latte vaccino in cui la componente insatura è più elevata.

Questo tipo di differenziazione sarebbe ascrivibile alla necessità per l'animale di mantenere il grasso ad uno stato di fluidità opportuno per la secrezione (Fontecha et al., 2000).

La frazione monoinsatura, pertanto e in particolare il contenuto di acido oleico (C18:1 *cis*9), risulta inferiore (tab. 6) nel latte di capra e di pecora rispetto ai bovini e ai bufali. Differenze piuttosto evidenti si riscontrano anche nel contenuto di isomeri *trans* del C18:1 (TFA), di isomeri coniugati dell'acido linoleico (CLA) e di

acidi grassi polinsaturi (PUFA) che risultano più abbondanti nel grasso del latte di pecora rispetto a quello di vacca e di capra (Jahreis et al., 1999; Precht et al., 2001).

Tuttavia, come è stato recentemente osservato da Wolff et al. (2001) in uno studio comparativo tra il grasso del latte di dromedaria e di bovino, il profilo degli isomeri *trans* del C18:1 non è intrinsecamente specie dipendente, ma può essere influenzato dalla natura e dalla quantità di PUFA presenti nella dieta che, a loro volta, dipendono dagli alimenti ingeriti dall'animale. Il grasso del latte di capra si caratterizza anche per una maggiore quantità di acidi grassi ramificati e/o a catena dispari. I più importanti acidi grassi ramificati, dal punto di vista quantitativo sono le forme iso e anteiso del C15:0 e del C17:0, nonché la forma iso del C16:0 (Alonso et al., 1999). Nell'ambito degli acidi grassi a corta catena (C4-C8) è da sottolineare anche la presenza di un largo numero di componenti metil-sostituite diverse dalle forme iso e anteiso che differenziano nettamente il grasso del latte di capra da quello di vacca (Ha e Lyndsay, 1991).

Nella specie bovina, la razza, lo stadio di lattazione, la stagione di produzione e l'allevamento sembrano essere i maggiori fattori di variazione. I valori di ereditabilità e ripetibilità per i singoli acidi grassi sono risultati quelli tipici dei caratteri legati alla produzione quanti-qualitativa di latte (0.26 e 0.37 rispettivamente), anche se i dati si riferiscono a pochi lavori e per di più non recenti (Karijoerd et al., 1982; Renner e Kosmack, 1974a). Sarebbe opportuno, pertanto, procedere ad un aggiornamento delle stime nell'ambito di popolazioni differenti e di numerosità adeguata, utilizzando i moderni sistemi di calcolo.

La correlazione genetica fra acidi grassi e contenuto di grasso nel latte è risultata positiva ed estremamente alta (~ 1) per la frazione a corta catena, più bassa e sempre positiva per gli acidi grassi a media catena (0.48) e molto elevata, ma inversa, per quelli a catena lunga (-0.98, Renner e Kosmack, 1974b).

Anche la razza è in grado di esercitare un effetto sulla composizione acidica del latte, anche se sono state trovate differenze solo su alcuni acidi grassi. Stull e Brown (citati da Gibson, 1991) nel 1964 evidenziavano che vacche di razza Holstein avevano livelli più bassi di C10:0, C12:0 e C16:0 e un maggior contenuto di C16:1 e

C18:1 rispetto a bovine di razza Guernsey e Jersey. Diversi anni più tardi anche Palmquist e Belieu (1992) riportarono differenze nella composizione acidica fra il grasso del latte di vacche Holstein e quello di bovine di razza Jersey, a prescindere dal tipo di dieta utilizzato. Anche in questo caso sono stati evidenziati tenori più bassi della frazione a media e corta catena (da C6 a C14) per le Holstein e un maggior contenuto di acido oleico (+15%). Lo stesso tipo di andamento è stato osservato anche in altri studi che hanno preso in considerazione la composizione acidica di queste due razze, confermando la stretta relazione che esiste tra il contenuto di grasso nel latte e la quantità di acidi grassi a corta catena prodotta in ghiandola mammaria (De Peters et al., 1995, White e col., 2001). In pratica la maggior produzione di acidi grassi a corta catena nella Jersey porterebbe le cellule della ghiandola mammaria ad avere un minor fabbisogno di acido oleico per l'esterificazione dei trigliceridi in posizione *sn3* (dettato dalla necessità di mantenere costanti le caratteristiche di fluidità dei lipidi dei globuli di grasso); sia l'acido oleico sia gli acidi grassi a corta catena, infatti, vengono esterificati in maniera preferenziale in questa posizione (Palmquist et al., 1993).

Differenze sono state riscontrate anche nel confronto tra Holstein e bovine di razza Bruna. Il latte di quest'ultime, infatti, sembra avere un maggior contenuto sia di acidi grassi a corta e media catena (sebbene non superiore a quello del latte di Jersey), sia di acido oleico. In particolare, il grasso del latte delle bovine di razza Bruna, rispetto a quello delle razze Holstein e Jersey, è caratterizzato da un rapporto oleico/stearico decisamente superiore (De Peters et al., 1995; Polidori et al., 1993). È evidente, pertanto, che le diverse razze considerate, a parità di alimentazione, hanno evidenziato un'espressione differenziale dell'enzima SCD che può far preludere ad eventuali polimorfismi del gene che codifica per questo enzima (Medrano et al., 1999).

Anche lo stadio di lattazione rientra tra i principali fattori di variazione della composizione acidica del latte, in quanto, come è noto, all'inizio della lattazione le bovine sono in bilancio energetico negativo e questo comporta una mobilitazione delle riserve adipose e l'incorporazione nel grasso del latte degli acidi grassi a lunga catena in esse contenuti (Belyea e Adams, 1990). L'aumento di questa frazione prelude alla riduzione della sintesi *de novo* degli acidi

grassi a corta catena nel tessuto mammario. Questo fenomeno tende ad attenuarsi con il progredire della lattazione e il raggiungimento del bilancio energetico positivo (di solito entro i primi 60 giorni dal parto). La sintesi degli acidi grassi a corta catena, tuttavia, è influenzata in maniera differente a seconda del numero di atomi di carbonio interessati, evidenziando un'inibizione crescente da C6 a C12 (Palmquist et al., 1993).

La sintesi dell'acido butirrico ($C_{4:0}$) sembra non subire alcuna modificazione in relazione al fatto che questo acido, a differenza di quanto avviene per gli altri appartenenti alla frazione a corta catena, per metà proviene direttamente da molecole preformate a 4 atomi di carbonio (β -idrossi butirato) e la rimanente quota ha origine da un processo metabolico indipendente (via della β -riduzione) che coinvolge la condensazione di due unità di acetato (Palmquist et al., 1993). L'effetto inibitorio degli acidi grassi a lunga catena, invece, si esplica in maniera crescente sulla condensazione di molecole di acetato con primer preformati a quattro atomi di carbonio (Palmquist et al., 1969).

Anche nella specie ovina sono state riscontrate differenze nella composizione acidica del latte di razze differenti. In un recente studio è stato messo a confronto il grasso del latte di tre greggi appartenenti a tre razze italiane di pecore da latte (Sarda, Massese e Garfagnina), allevate nello stesso ambiente e con sistemi del tutto confrontabili (Secchiari et al., 2001b). Anche per il latte ovino è stato confermato che le razze contraddistinte da una maggior quantità di acidi grassi a corta catena utilizzano meno acido oleico nella formazione dei trigliceridi. Il latte della razza Massese e Garfagnina, nella fattispecie, risulta essere più ricco in acidi grassi a corta catena e con un contenuto più basso di acido oleico e di acido linoleico rispetto a quello della razza Sarda (tabb. 7, 8, 9, 10, 11). Quest'ultima, inoltre, ha evidenziato un contenuto inferiore di CLA totali e, in particolare di acido rumenico, rispetto alle prime due. I tre greggi esaminati, comunque, hanno prodotto latte con un contenuto di CLA mediamente superiore all'1.5% dei lipidi totali (tab. 9). La stagione di produzione, inoltre, ha influito notevolmente sul contenuto di CLA, di acidi grassi *trans* e di acidi grassi a corta catena nel latte dei tre greggi considerati (tab. 11). Nella stagione primaverile, infatti, il tenore di questi acidi grassi è risultato notevolmente superiore a quello riscontrato nella stagione estiva, confermando la

ACIDI GRASSI	RAZZA			
	GARFAGNINA	MASSESE	SARDA	S.E.
C _{4:0}	4.10 A	3.70 B	3.40 C	0.058
C _{6:0}	2.90 A	2.85 A	2.31 B	0.113
C _{8:0}	2.74 a	2.94 a	2.21 b	0.193
C _{10:0}	7.74 a	8.71 a	6.30 b	0.580
C _{12:0}	4.96	5.22	4.46	0.437
C _{14:0}	13.39	12.83	12.05	0.679
C _{14:1}	0.24	0.27	0.29	0.016
C ₁₅	1.61 a	1.68 a	1.4 b	0.059
C ₁₆	26.79	26.40	25.94	0.624
C _{16:1}	0.87 A	1.003 B	1.007 B	0.032
C ₁₇	0.87 a	0.90 a	0.79 b	0.027
C ₂₀	0.27	0.31	0.31	0.015
C _{20:1} n-9	0.05	40.040	0.060	0.009
C _{20:4} n-6	0.05 a	0.098 b	0.114 b	0.010
C ₂₂	0.25	0.27	0.22	0.016
Lettere maiuscole differenti sulla stessa riga: $p \leq 0.01$.				
Lettere minuscole differenti sulla stessa riga: $p \leq 0.05$.				

Tab. 7 *Contenuto di acidi grassi a media, corta e lunga catena del grasso del latte di tre razze ovine (g/100g estratto lipidico)*

stretta relazione esistente con l'assunzione di foraggio fresco di buona qualità, ricco, come è noto, in PUFA.

IL GRASSO DELLA CARNE DEI RUMINANTI

Il grasso è distribuito nel corpo degli animali al di sotto della cute e come tessuto di riempimento, fra gli organi. È in stretto rapporto con il connettivo lasso e i suoi accumuli costituiscono materiale energetico di riserva, che può essere utilizzato in caso di insufficiente o mancante alimentazione. Oltre al tessuto adiposo, variabile con lo stato di nutrizione, ci sono siti di accumulo di grasso che non scompaiono mai, neppure in caso di dimagrimento estremo: il grasso che si trova nell'orbita, quello che costituisce la bolla adiposa della guancia, quello del cavo ischio-rettale, ecc.

La formazione del tessuto adiposo può essere primaria o secondaria. Quest'ultima riguarda i tessuti più soggetti a variazioni quantitative e implica semplicemente la trasformazione di comuni fibrociti in cellule adipose.

RAZZA				
ACIDI GRASSI	GARFAGNINA	MASSESE	SARDA	S.E.
C ₁₈	9.37 A	8.09 B	9.82 A	0.380
C _{18:1} <i>trans</i> 6	0.15 A	0.15 A	0.30 B	0.032
C _{18:1} <i>trans</i> 9	0.23 A	0.24 A	0.34 B	0.025
C _{18:1} <i>trans</i> 10	0.00	0.00	0.00	0.000
C _{18:1} <i>trans</i> 11	3.37	2.99	2.50	0.300
C _{18:1} <i>trans</i> 12	0.25 A	0.26 A	0.40 B	0.032
Total <i>trans</i>	4.00	3.65	3.53	0.370
C _{18:1} <i>cis</i> 7	0.83	0.79	1.07	0.096
C _{18:1} <i>cis</i> 9	15.75 A	15.35 A	17.48 B	0.490
C _{18:1} <i>cis</i> 11	0.23	0.25	0.27	0.011
C _{18:1} <i>cis</i> 12	0.1 A	0.11 A	0.28 B	0.020
Total <i>cis</i>	16.91 A	16.51 A	19.1 B	0.450
C _{18:2} <i>cis</i> 9, <i>cis</i> 12	1.49 a	1.45 a	1.69 b	0.055
C _{18:3} <i>cis</i> 9, <i>cis</i> 12, <i>cis</i> 15	1.30 A	1.21 A	0.80 B	0.054

Lettere maiuscole differenti sulla stessa riga: $p \leq 0.01$.
Lettere minuscole differenti sulla stessa riga: $p \leq 0.05$.

Tab. 8 *Contenuto di acido stearico, isomeri cis e trans del C_{18:1}, acido linoleico e linolenico nel latte di tre razze ovine (g/100g estratto lipidico)*

RAZZA				
ACIDI GRASSI	GARFAGNINA	MASSESE	SARDA	S.E.
CLA 11 <i>trans</i> , 13 <i>trans</i>	0.054	0.042	0.041	0.005
CLA 10 <i>trans</i> , 12 <i>trans</i>	0.100	0.075	0.072	0.010
CLA 9 <i>trans</i> , 11 <i>trans</i>	0.016 a	0.007 b	0.014 a	0.002
CLA 8 <i>trans</i> , 10 <i>trans</i>	0.038	0.032	0.029	0.003
CLA 11 <i>cis</i> , 13 <i>trans</i>	0.017	0.010	0.012	0.002
CLA 10 <i>cis</i> , 12 <i>trans</i>	0.122 a	0.082 b	0.073 b	0.011
CLA 9 <i>cis</i> , 11 <i>trans</i>	1.510 a	1.540 a	1.090 b	0.129
CLA 8 <i>cis</i> , 10 <i>trans</i>	0.066	0.061	0.073	0.009
CLA 7 <i>cis</i> , 9 <i>trans</i>	0.013 a	0.006 b	0.007 b	0.003
CLA 9/11 <i>cis</i> +CLA 10/12 <i>cis</i>	0.018	0.012	0.016	0.003
Total CLA	1.967 a	1.872 a	1.429 b	0.144

Lettere differenti sulla stessa riga: $p \leq 0.05$

Tab. 9 *Contenuto di isomeri CLA nel latte di tre razze ovine (g/100g estratto lipidico)*

Il grasso perirenale, quello perifaringeo, gran parte di quello del collo e quello di qualche altra regione si sviluppano per “formazione primaria”. Derivano infatti da cellule mesenchimali fetali, che assumono aspetto epitelioido (stetoblasti) e, in intimo rapporto con i capillari, si caricano di goccioline di grasso sempre

ACIDI GRASSI	STAGIONE			
	PRIMAVERA	ESTATE	S.E.	P
C _{4:0}	3.72	3.76	0.045	
C _{6:0}	2.94	2.45	0.088	**
C _{8:0}	2.94	2.32	0.150	**
C _{10:0}	8.26	6.90	0.451	*
C _{12:0}	5.72	4.04	0.340	**
C _{14:0}	13.54	11.98	0.529	*
C _{14:1}	0.27	0.27	0.013	
C ₁₅	1.55	1.58	0.046	
C ₁₆	25.83	26.92	0.486	
C _{16:1}	0.88	1.04	0.025	**
C ₁₇	0.83	0.88	0.021	
C ₁₈	9.17	9.02	0.295	
C _{18:1 cis 7}	1.06	0.74	0.075	**
C _{18:1 cis 9}	15.90	16.48	0.381	
C _{18:1 cis 11}	0.25	0.25	0.008	
C _{18:1 cis 12}	0.13	0.20	0.016	**
Total cis	17.34	17.67	0.354	
C _{18:2 cis 9, cis 12}	1.33	1.76	0.043	**
C _{18:3 cis 9, cis 12, cis 15}	1.04	1.17	0.042	*
C ₂₀	0.27	0.32	0.011	*
C _{20:1 n-9}	0.05	0.05	0.007	
C _{20:4 n-6}	0.08	0.09	0.008	
C ₂₂	0.26	0.24	0.013	
* = $p \leq 0.05$.				
** = $p \leq 0.01$.				

Tab. 10 *Contenuto di acidi grassi a corta, media e lunga catena in campioni di latte ovino raccolti in primavera e in estate (g/100g estratto lipidico)*

più numerose e confluenti, fino ad essere trasformate in cellule adipose.

Il grasso della parte edibile della carcassa animale può essere suddiviso in una frazione “periferica”, che al momento del consumo può essere eliminata, e in una frazione localizzata tra i muscoli, tra i fasci di fibre e tra le fibre che conferisce alla carne quell’aspetto, che sulla superficie del taglio della medesima, può far apparire “chiazze” più o meno espanse di grasso, costituendo il cosiddetto grasso di marezzatura (fig. 8).

Il grasso di marezzatura, costituito prevalentemente da trigliceridi (TG), assume funzioni di riserva energetica per l’organismo ed è quantitativamente influenzato dalla specie, dalla razza, dall’età, e dallo stato nutrizionale dell’animale.

Il contenuto di grasso intramuscolare è molto variabile: in rela-

ACIDI GRASSI	SEASON			
	PRIMAVERA	ESTATE	S.E.	P
CLA 11 <i>trans</i> , 13 <i>trans</i>	0.060	0.032	0.004	**
CLA 10 <i>trans</i> , 12 <i>trans</i>	0.106	0.062	0.008	**
CLA 9 <i>trans</i> , 11 <i>trans</i>	0.009	0.010	0.0017	
CLA 8 <i>trans</i> , 10 <i>trans</i>	0.040	0.027	0.002	**
CLA 11 <i>cis</i> , 13 <i>trans</i>	0.016	0.010	0.001	*
CLA 10 <i>cis</i> , 12 <i>trans</i>	0.112	0.073	0.009	**
CLA 9 <i>cis</i> , 11 <i>trans</i>	1.66	1.10	0.101	**
CLA 8 <i>cis</i> , 10 <i>trans</i>	0.068	0.065	0.007	
CLA 7 <i>cis</i> , 9 <i>trans</i>	0.011	0.007	0.002	
CLA 9/11 <i>cis</i> +CLA 10/12 <i>cis</i>	0.016	0.015	0.002	
Total CLA	2.104	1.408	0.112	**
C _{18:1} <i>trans</i> 6	0.226	0.177	0.026	
C _{18:1} <i>trans</i> 9	0.299	0.240	0.020	*
C _{18:1} <i>trans</i> 11	3.706	2.206	0.234	**
C _{18:1} <i>trans</i> 12	0.343	0.261	0.025	*
Total <i>trans</i>	4.57	2.88	0.286	**
* = p ≤ 0.05.				
** = p ≤ 0.01.				

Tab. 11 *Contenuto di isomeri CLA e isomeri trans del C18:1 in campioni di latte ovino raccolti in primavera e in estate (g/100g estratto lipidico)*

zione alla specie; ad esempio, si va da un valore di poco al di sotto del 2% della carne, per alcuni tagli pregiati di razze bovine italiane da carne, al 17% della costoletta di agnello, passando attraverso il 4.8% del filetto di maiale ed il 6.2% del pollo (Geay et al., 2001). Come sarà meglio spiegato in seguito, tali importanti differenze dal punto di vista quantitativo, si traducono in altrettanto importanti differenze di tipo qualitativo.

Oltre alla specie esistono altri fattori che sono molto importanti nell'influenzare la quantità (e quindi la qualità) dei depositi adiposi intramuscolari. Ad esempio, per quanto riguarda i bovini, il contenuto di lipidi intramuscolari alla nascita è molto basso (0.2%; Nurnberg et al., 1999) e nei primi tre mesi di vita non subisce praticamente nessun incremento. Nelle fasi successive, le razze a "maturazione fisiologica" più tardiva (Limousine, Charolaise, razze italiane) mostrano un tenore di lipidi intramuscolari decisamente più basso rispetto a razze a maturazione fisiologica più precoce (Angus, Hereford, Holstein; Malau-Aduli et al., 2000) (fig. 9).

A queste differenze, imputabili al tipo genetico, si cumulano quel-

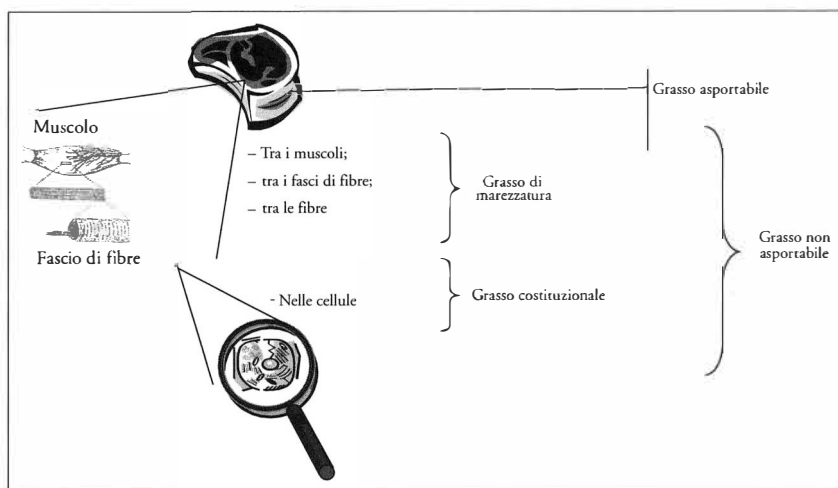


Fig. 8 Distribuzione del grasso nella carne

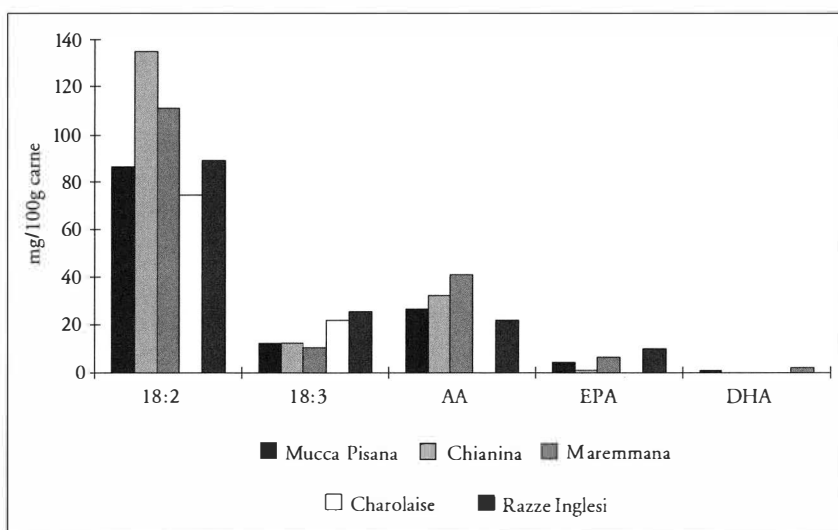


Fig. 9 Composizione acidica del grasso della carne di differenti razze bovine

le dovute al tipo di alimentazione e, segnatamente, al livello energetico della stessa. Tuttavia gli effetti di una razione molto energetica sull'aumento dei depositi lipidici intramuscolari variano in maniera im-

portante in relazione all'età dell'animale; in fase di accrescimento (al di sotto dei sei mesi di età), una razione con elevato livello energetico determina un aumento del tenore lipidico intramuscolare da 1.5 a 2.3 volte inferiore rispetto quello che si registra se la stessa razione è somministrata in fase di "ingrasso" (Bas e Sauvant, 2001).

Nelle cellule muscolari esiste, inoltre, tutta la frazione lipidica presente a livello delle membrane biologiche, rappresentata soprattutto dai fosfolipidi (PL), dal colesterolo e dagli stessi trigliceridi e che assume un ruolo di fondamentale importanza nella regolazione della funzionalità delle medesime. Su tale frazione l'alimentazione ha un'influenza soprattutto dal punto di vista qualitativo, mentre, almeno in prima approssimazione, l'influenza dal punto di vista quantitativo è limitata.

Nella specie bovina, infatti, l'aumento dei depositi adiposi intramuscolari, che si verifica all'aumentare dell'età e in conseguenza ad un regime alimentare che preveda una razione dall'elevato contenuto energetico, riguarda soprattutto la frazione rappresentata dai TG che, nel corso della crescita passano dal 20 al 90% dei lipidi totali (Bas e Sauvant, 2001). Ciò determina una notevole variazione nella composizione acidica della carne e, quindi, della qualità nutrizionale della medesima.

I trigliceridi ed i fosfolipidi, come più volte ricordato, sono infatti il risultato dell'esterificazione della glicerina con acidi grassi. Definire un prodotto quale la carne, dal punto di vista della qualità della frazione lipidica, significa anche indicarne la composizione acidica, vale a dire operare la determinazione quanti-qualitativa degli acidi grassi che la compongono.

Le variazioni della frazione lipidica intramuscolare dal punto di vista qualitativo sono dovute al fatto che, come ricordato sopra, con all'aumentare dell'età e in risposta a regimi alimentari variamente energetici, da un lato mutano i rapporti relativi tra TG e PL, e dall'altro, i TG e PL mostrano una composizione acidica nettamente differente.

I TG dei bovini denotano infatti una composizione acidica caratterizzata da una percentuale di acidi grassi saturi (SFA) e monoinsaturi (MUFA) nettamente superiore rispetto a quella dei PL (+12 e +24% rispettivamente). Relativamente ai SFA le differenze maggiori si riscontrano per l'acido miristico (C14:0), presente in una quantità quattro volte superiore nei TG rispetto ai PL, mentre

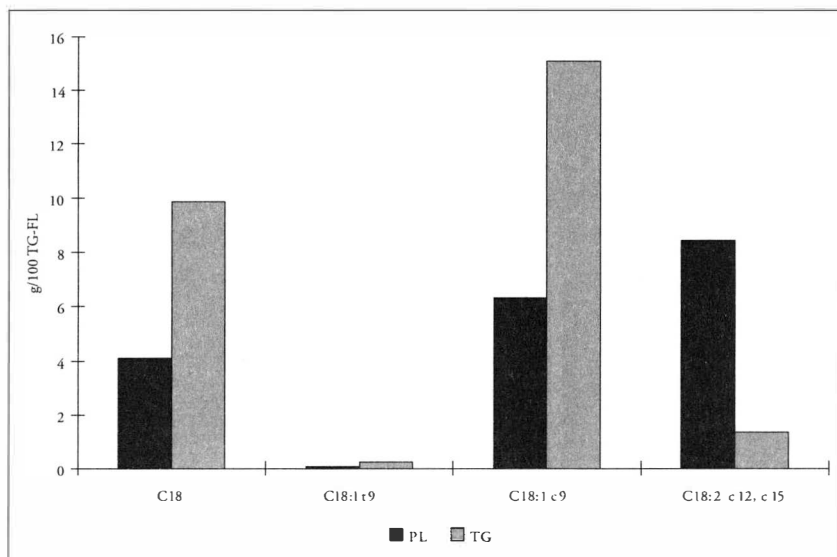


Fig. 10 I trigliceridi e i fosfolipidi mostrano una composizione acidica nettamente differente

l'acido stearico (C18:0) non mostra un'esterificazione preferenziale (Bas e Sauvant, 2001; Mele et al., 2001) (fig. 10).

Di contro i PL dei bovini sono caratterizzati da una composizione acidica in cui gli acidi grassi polinsaturi (PUFA) sono presenti in quantità molto maggiori rispetto a quelle dei TG (32.3% vs 3.4%, rispettivamente). Nello specifico, tali differenze riguardano soprattutto gli acidi grassi a lunga catena (con un numero di atomi di carbonio superiore a 20); infatti gli acidi grassi "oltre" l'arachidonico (20:4 n-6) sono in pratica presenti esclusivamente nei PL (fig. 10).

Altro acido che mostra un'esterificazione preferenziale nella frazione lipidica polare è l'acido linoleico (C18:2 n-6) (circa 18% dei PL e circa il 4% dei TG), mentre le differenze tra PL e TG per i contenuti di acido linolenico (18:3 n-3), non sono altrettanto evidenti (Bas e Sauvant, 2001).

Relativamente ai fattori che influiscono sulla composizione acidica del grasso intramuscolare e, quindi, sulla qualità nutrizionale dello stesso, non si può tralasciare ovviamente l'effetto della specie (fig. 11 e tab. 12).

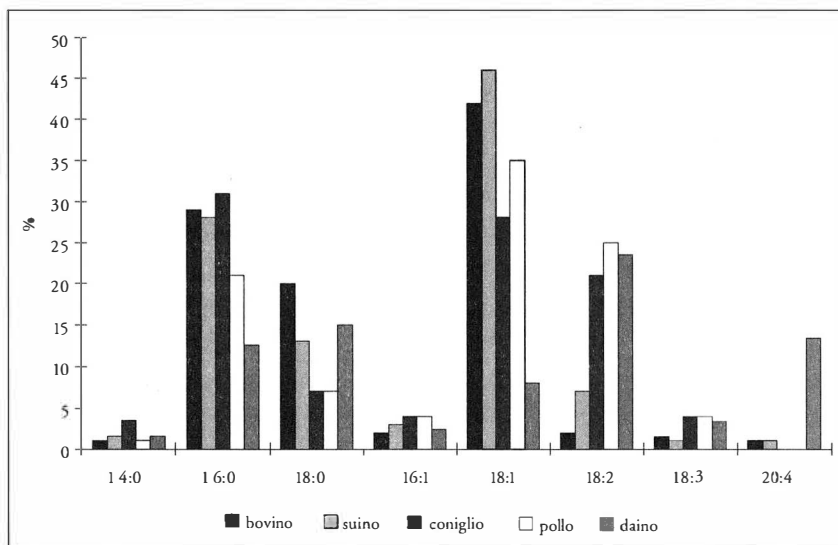


Fig. 11 *Composizione acidica del grasso della carne di differenti specie di animali domestici*

I grassi bovino ed ovino sono caratterizzati da un rapporto acidi grassi saturi/insaturi prossimo all'unità e si distinguono da quelli del suino e del coniglio soprattutto per l'elevato contenuto in acido stearico ed oleico. Il grasso suino presenta, rispetto a quello bovino, una quantità di acidi grassi insaturi superiore, mentre il pollo ed il coniglio si distinguono per la limitata quantità di acido stearico cui si contrappone un peso percentuale notevole degli acidi grassi poliinsaturi (linoleico e linolenico).

Tali differenze sono imputabili anche alla diversa composizione acidica dei TG nelle varie specie. I TG del grasso intramuscolare della specie bovina presentano, come ricordato diffusamente in precedenza, una quantità di PUFA molto più bassa (3.4%) rispetto a quelle dei TG del suino, in cui i PUFA variano dal 7 al 15% e del pollo, in cui i PUFA raggiungono addirittura il 20-25% (Bas e Sauviant, 2001).

D'altronde la composizione acidica del grasso dei monogastrici è fortemente correlata a quella dei lipidi della dieta, diversamente da quello che avviene per i ruminanti, a causa della massiccia idro-

		BOVINO	SUINO	CONIGLIO	POLLO
<i>Saturi</i>					
C _{14:0}	Miristico	1	1.5	3.5	1
C _{16:0}	Palmitico	29	28	31	21
C _{18:0}	Stearico	20	13	7	7
<i>Insaturi</i>					
C _{16:1}	Palmitoleico	2	3	4	4
C _{18:1}	Oleico	42	46	28	35
C _{18:2}	Linoleico	2	7	21	25
C _{18:3}	Linolenico	1.5	1	4	4
C _{20:4}	Arachidonico	1	1	tracce	tracce

Tab. 12 *Composizione in acidi grassi del grasso di deposito presente nella carne di alcune specie di animali da macello (% del grasso totale)*

genazione che gli acidi grassi insaturi alimentari subiscono ad opera della microflora ruminale. Tuttavia, come prodotti intermedi dell'idrogenazione ruminale della componente lipidica alimentare insatura, si produce una categoria di sostanze molto importante per i molteplici e benefici effetti sulla salute umana, vale a dire gli isomeri coniugati dell'acido linoleico (CLA), che verranno ampiamente trattati nelle relazioni successive (Mele et al., 2002; Buccioni et al., 2002; Antongiovanni et al., 2002; Banni et al., 2002).

La composizione acidica dei depositi adiposi intramuscolari ha subito una notevole variazione anche in conseguenza della domesticazione; infatti, il rapporto acidi grassi non essenziali/essenziali nella carne degli animali selvatici è di 3:1, mentre in quella degli ruminanti domestici è di circa 50:1 (Antongiovanni et al., 1990). Tali profonde differenze possono essere ascritte, oltre che al tipo genetico, anche al regime alimentare che, nel caso degli animali selvatici, si basa quasi esclusivamente su essenze fresche particolarmente ricche in acidi grassi essenziali, mentre, nel caso dei ruminanti di interesse zootecnico, soprattutto se allevati con metodi intensivi, è basato su alimenti conservati e concentrati.

Una recente osservazione sulla componente lipidica delle carni di daino (Dama dama) ha permesso di verificare come questa sia composta soprattutto da PL, NEFA e colesterolo, mentre i trigliceridi sono risultati presenti in quantità trascurabile (Secchiari et al., 2001c). Occorre sottolineare che si è trattato di un'osservazione su campioni di carne molto magra, in quanto i daini sono stati macel-

lati al termine di un periodo di restrizioni alimentari come quello invernale, e questi valori andrebbero confrontati con carni di soggetti in condizioni di normale apporto energetico.

Una caratteristica distintiva delle carni di daino da noi osservata è stata la presenza nella frazione lipidica di acidi grassi ramificati (7% del totale); ciò è riportato anche da altri autori (Smith et al., 1987) e rappresenta un dato rilevante, se si considera che nelle specie domestiche e anche in altre specie selvatiche, questi raggiungono appena il 2% del totale.

Il grado di insaturazione della composizione acidica del grasso dei ruminanti è incrementabile se si fornisce all'animale un alimento in grado di sfuggire, per le sue caratteristiche fisico-chimiche naturali o artificiali, all'azione dei batteri ruminali (Antongiovanni et al., 1990). Nel caso in cui si intenda modificare la composizione acidica di un prodotto zootecnico proveniente da animali poligastrici attraverso la somministrazione di opportuni acidi grassi protetti, assume un ruolo molto importante il tipo di protezione: nel caso, ad esempio, di lipidi protetti attraverso la "salificazione" (sali di calcio) si può incorrere in una dissociazione del sale e quindi nell'inattivazione della protezione, per effetto della diminuzione del pH ruminale che può intervenire ad esempio nel caso di somministrazione di razioni molto energetiche e ricche di amidi (Chilliard et al., 2000).

Infine non bisogna tralasciare il fatto che i lipidi in genere e gli acidi grassi in particolare, oltre ad influenzare le caratteristiche chimico-nutrizionali della carne, ne condizionano anche le caratteristiche organolettiche. Ad esempio l'acido oleico è positivamente correlato con l'aroma, il gusto e la succosità della carne (Gigli et al., 1990; Antongiovanni et al., 1990), mentre l'acido linoleico sembra sia correlato negativamente con l'aroma; l'acido stearico sarebbe positivamente correlato con le caratteristiche fisiche del grasso (Antongiovanni et al., 1990). In generale la carne povera in lipidi si presenta meno succulenta, poco aromatica e piuttosto dura anche se tali aspetti sono meno premianti del fatto che la carne magra viene spesso preferita dal consumatore per il suo minor apporto calorico. Le peggiori caratteristiche che, come sopra detto, si accompagnano ad un basso tenore lipidico sono, pertanto, spesso trascurate dal consumatore medio, che rivolge la sua attenzione solo al "problema" dell'apporto di grassi.

TIPO DI CARNE	COLESTEROLO (mg 100/g DI CARNE)
Muscolo bovino	66
Muscolo vitello	70
Muscolo suino	65
Filetto di montone	81
Pollo (valore medio)	74
Tacchino (valore medio)	75
Pecora (grasso intermuscolare)	99
TIPO DI PRODOTTI	COLESTEROLO (mg 100/g DI CARNE)
Hamburger	44
Wurstel	110
Salame tipo Milano	71
Mortadella	81
Prosciutto di Parma	80
Bresaola	37

Tab. 13 *Contenuto di colesterolo nella carne cruda e in prodotti a base di carne*

IL CONTENUTO DI COLESTEROLO DELLA CARNE

Nella tabella 13 è riportato il contenuto in colesterolo di diversi tipi di carne (parte superiore della tabella) e prodotti a base di carne (parte inferiore). Da qui emerge che, relativamente ai livelli di colesterolo, per diversi tipi di carne, il range di variabilità in funzione della razza e della regione “anatomica”, non raggiunge dei livelli tali da poter avere un utilizzo pratico al fine della riduzione dell’ingestione di colesterolo stesso (Dorado et al., 1999).

Al contrario il contenuto di colesterolo pare essere influenzato in maniera molto più rilevante dal tipo di muscolo (tab. 14).

È utile ricordare che i muscoli dei mammiferi si dividono in muscoli “rossi” o muscoli “bianchi” in relazione al rapporto relativo tra le fibre che li costituiscono: infatti le fibre muscolari si distinguono, in base al tipo di metabolismo e alla velocità di contrazione, in fibre a metabolismo energetico ed a contrazione rapida (fibre bianche) e fibre a metabolismo ossidativo ed a contrazione lenta (fibre rosse).

Come risulta dalla tabella 15, relativamente al contenuto di colesterolo nei tessuti muscolari, esistono differenze, talora piuttosto marcate, tra gli stessi muscoli di animali appartenenti a specie diverse, o tra muscoli diversi di animali appartenenti alla stessa specie.

Smith et al. (1993) riportano, per il muscolo pettorale degli anatrocchi (caratterizzato dal 16% di fibre bianche), un contenu-

TIPO DI CARNE	COLESTEROLO (mg/100g)
Bovino	
<i>Quadriceps femoris</i>	49.0
<i>Semimembranosus</i>	49.5
<i>Semitendinosus</i>	53.5
<i>Longissimus Dorsi</i>	48.5
Cuore	150.0
Ovino	
<i>Semimembranosus</i>	50
<i>Rectus femoris</i>	50
<i>Biceps femoris</i>	49
<i>Gluteus</i>	50
Suino	
<i>Biceps femoris</i>	48.6
<i>Longissimus Dorsi</i>	45.3
<i>Semimembranosus</i>	49.9
Stomaco	141.2
Cuore	150.0
Pollo	
Petto senza pelle	43.4
Petto con pelle	61.4
Coscia con pelle	84
Cuore	170
Tacchino	
Petto senza pelle	44.0
Petto con pelle	50.8
Coscia con pelle	71.9
Ali con pelle	64.9
Struzzo	
<i>Muscolo gastrocnemius</i>	65.5
<i>Muscolo iliofibularis</i>	63.0

Tab. 14 *Contenuto di colesterolo in muscoli e specie differenti*

to di colesterolo significativamente maggiore rispetto a quello del medesimo muscolo dei broiler (costituito invece totalmente da fibre bianche). Fernandez et al. (1995) nei suini, trovano, d'altronde, un contenuto di colesterolo del muscolo *Longissimus Lombo-rum* (costituito soprattutto da fibre bianche), significativamente maggiore rispetto a quello del muscolo *Semispinalis Capitis* (in cui invece predominano le fibre rosse). La variabilità del contenuto di colesterolo in muscoli diversi di animali appartenenti alla stessa specie è stata verificata anche nella specie bovina (Browning et al., 1990), anche se le differenze sono meno rilevanti di quelle presenti nel suino.

ALIMENTI	N. DEI CAMPIONI	TOTALE CLA (mg/g GRASSO)	C9, T11 (%)
Girello di manzo	4	2.9 ± 0.09	79
Macinato fresco di girello	4	3.8 ± 0.11	84
Macinato fresco generico	4	4.3 ± 0.13	85
Vitello	2	2.7 ± 0.24	84
Agnello	4x	5.6 ± 0.29	92
Suino	2	0.6 ± 0.06	82
Pollo	2	0.9 ± 0.02	84
Carne fresca di tacchino	2	2.5 ± 0.04	76
Uova	2	0.6 ± 0.05	82
Salmone	4	0.3 ± 0.05	n.d.
Trota di lago	3	0.5 ± 0.05	n.d.
Ostriche di mare	2	0.3 ± 0.05	n.d.
Gamberi	2	0.6 ± 0.10	n.d.
Cozze	2	0.4 ± 0.04	n.d.

Tab. 15 *Contenuto di CLA nelle carni crude*

La variabilità del contenuto di colesterolo in funzione del tipo di muscolo trova una duplice interpretazione. La prima, di natura “fisica”, discende dalla diversa dimensione delle fibre rosse e bianche, poiché quest’ultime hanno una dimensione trasversale maggiore rispetto alle prime. Nel caso di muscoli appartenenti ad animali di specie diversa e caratterizzati dal medesimo sviluppo (come nel caso degli anatrocchi e broiler) un muscolo costituito da un maggior numero di fibre rosse (il muscolo pettorale degli anatrocchi) sarà costituito da un numero maggiore di fibre: d’altronde aumentare il numero di fibre significa aumentare il perimetro totale di sarcolemma e, quindi, il colesterolo totale. In estrema sintesi, a parità di “massa”, un muscolo avrà un contenuto di colesterolo tanto più elevato quanto maggiore è la percentuale relativa di fibre rosse che lo caratterizza (Smith et al., 1993).

La seconda interpretazione è di tipo fisiologico e si basa sul fatto che i muscoli a metabolismo “ossidativo” sono più ricchi di fosfolipidi; d’altronde il contenuto di fosfolipidi nelle cellule è correlato positivamente al contenuto di colesterolo in quanto, come ricordato in precedenza, la conformazione stereochimica di quest’ultimo consente un’ottimale interazione con i fosfolipidi nella direzione del mantenimento delle fluidità e della funzionalità della membrana stessa (Alasnier et al., 1996; Vance e Van den Bosch, 2000).

Pertanto, sembra che gran parte delle differenze del contenuto di

colesterolo in muscoli diversi di animali della stessa specie o nei medesimi muscoli di animali di specie diverse possano essere ricondotte al tipo di fibra muscolare (Chizzolini et al., 1999).

Altra importante aspetto è quello della relazione tra stato di ingrassamento degli animali e quantità di colesterolo nei loro tessuti.

Nel muscolo *Longissimus Dorsi* dei bovini è stato osservato che la maggior parte del colesterolo (il 70-80%) è contenuto nelle membrane cellulari, mentre il citoplasma contiene solo il 20-40% del colesterolo totale (Hoelster et al., 1988). La distribuzione relativa del colesterolo totale è diametralmente opposta nel caso del tessuto adiposo sottocutaneo in cui solo l'8-12% del colesterolo totale è contenuto nelle membrane e ben l'88-92% nel citoplasma delle cellule che lo costituiscono (Kinney Sweeten et al., 1990).

Altri studi hanno messo in evidenza che in carcasse bovine di differente grado di adiposità, il contenuto di colesterolo totale non varia; a variare è invece la distribuzione relativa dello stesso nelle membrane e nel citoplasma delle cellule. La distribuzione subcellulare del colesterolo nei tessuti muscolari cambia, infatti, con lo stato di ingrassamento dell'animale; all'aumentare dei lipidi di riserva, o comunque dei lipidi "non di membrana", diminuisce la quantità di colesterolo presente a livello della membrana ed aumenta invece quella a livello del citoplasma delle cellule lipidiche (Hoelster et al., 1988).

In estrema sintesi il contenuto di colesterolo totale a livello dei muscoli non subisce variazioni rilevanti in conseguenza dell'aumento del grasso intramuscolare e pertanto dello stato di ingrassamento dell'animale (Lewis et al., 1993; Browning et al., 1990).

Infine, relativamente alla distribuzione relativa del colesterolo totale nei tessuti, esistono delle differenze piuttosto marcate tra le specie. Nel bovino sono molte le evidenze sperimentali che confermano che il contenuto del colesterolo nei depositi adiposi è molto superiore rispetto a quello del tessuto muscolare; nei suini, Lan e collaboratori (1993) riportano invece, per i tessuti lipidici sottocutaneo ed intermuscolare, una quantità di colesterolo sostanzialmente equivalente e prossima a 100 mg/100g di carne.

La carne di daino, secondo i nostri dati, mostra un elevato contenuto di colesterolo (102 mg/100g di carne, superiore a quello degli altri tipi di carne e inferiore solo a quello delle uova (Secchiari et al., 2001c).

Il Colesterolo

Omeostasi del colesterolo a livello cellulare: biochimismo

Come è stato detto in precedenza, il colesterolo viene sintetizzato soprattutto nel fegato anche se tutte le cellule sono potenzialmente capaci di produrlo. Nell'uomo la sintesi avviene giornalmente tra le ore 24 e le ore 2 del mattino, mediamente nella misura di 15 mg per kg di peso corporeo.

Il colesterolo ematico neosintetizzato a livello epatico o di provenienza alimentare è veicolato dalle LDL fino alle cellule dei tessuti periferici.

A livello delle membrane di tali cellule sono presenti dei recettori specifici per le LDL che le "captano"; il numero di tali recettori varia, in relazione al fabbisogno di colesterolo, da 5000 a 50.000. Una volta captate, le LDL contenenti il colesterolo passano all'interno della cellula con un meccanismo di endocitosi con il quale si generano i lisosomi. In tali organuli la principale apolipoproteina (apo B) ed il colesterolo vengono "separati"; quest'ultimo si viene così a trovare all'interno della cellula in forma libera, mentre le LDL vengono idrolizzate negli aminoacidi che le compongono (Vance e Van den Bosch, 2000).

A questo punto il colesterolo non esterificato, a seconda della sua concentrazione, può funzionare da "motore" per il meccanismo di omeostasi a livello cellulare. Esso può agire infatti sull'espressione dei geni che codificano sia per i recettori delle LDL, che come si è visto svolgono un ruolo fondamentale nella fase di captazione delle stesse da parte della membrana cellulare, sia per l'enzima HMG-CoA reductasi (Brown e Goldstein, 1976; Brown e Goldstein, 1986; Nimpf e Schnider, 2000).

Il meccanismo biologico attraverso il quale si realizza l'omeostasi cellulare del colesterolo prevede l'intervento di un elemento, detto SREBP (Sterol Regulatory Element Binding Protein), che può legarsi ad un elemento "sterolo regolatore" presente nel promotore prossimale dei suddetti geni e, nel caso, promuovere l'espressione di tutti i geni coinvolti nella sintesi del colesterolo e degli acidi grassi (Brown e Goldstein, 1997).

Il colesterolo non esterificato nella cellula, più in particolare, si

lega ad una proteina presente a livello dell'apparato di Golgi detta SCAP (SREBP Cleavage Activating Protein) la quale, a sua volta, regola l'attività di una proteasi che determina la liberazione di un precursore dello SREBP (Brown e Goldstein, 1997).

Quando il livello di colesterolo è adeguato, la proteasi non è attivata, non si libera il precursore dello SREBP, il quale non può quindi migrare verso il nucleo e indurre l'espressione dei geni coinvolti nella produzione dell'HMG-CoA riduttasi e dei recettori per le LDL: questo stato di cose determina, da un lato, l'interruzione della produzione di colesterolo endogeno, dall'altro, un "blocco" all'entrata nella cellula di altro colesterolo (Brown e Goldstein, 1997; Edwards et al., 2000). Viceversa, quando il livello di colesterolo cellulare in forma libera non è sufficiente, si determinano le condizioni per il rilascio del precursore dello SREBP, questo migra verso il nucleo ed i suddetti geni possono essere attivati (Brown e Goldstein, 1997; Edwards et al., 2000).

In estrema sostanza la velocità di sintesi del colesterolo è inversamente correlata alla sua concentrazione all'interno delle cellule, e tale meccanismo di omeostasi è sotto il controllo di elementi come lo SCAP e lo SREBP a mezzo di un sistema a feedback che consente di mantenere la concentrazione cellulare di colesterolo a livelli ottimali.

Al meccanismo di controllo della sintesi endogena di colesterolo riportato sopra, se ne affianca un secondo, che contribuisce al controllo del livello cellulare di steroli liberi, cioè il sistema rappresentato dall'enzima ACAT (Acil-CoA-Cholesterol Aciltransferasi). L'ACAT, a livello della membrana lipoproteica del reticolo endoplasmatico, determina l'esterificazione del colesterolo libero con gruppi acil-CoA a lunga catena (Brown e Goldstein, 1986). Gli esteriferati del colesterolo possono così essere immagazzinati in "goccioline" nel citosol e proteggere le cellule dall'effetto tossico degli steroli non esterificati o, in alternativa, essere secreti dalla cellula come componenti delle lipoproteine contenenti Apo-B.

Il "trasporto inverso" del colesterolo

Come si è detto più volte in precedenza, il colesterolo può essere sintetizzato praticamente in tutte le cellule, anche se il suo catabolismo nella maggior parte di queste è molto limitato.

I due maggiori organi che catabolizzano il colesterolo sono il fegato, in cui è convertito in acidi biliari, e le cellule steroideogeniche, nelle quali è trasformato in ormoni steroidei.

I meccanismi che regolano il rilascio del colesterolo dalle cellule ed il suo successivo trasporto ai suddetti organi sono molto importanti. Il colesterolo prodotto a livello epatico è trasportato alle cellule periferiche soprattutto attraverso le LDL (o comunque con altre lipoproteine contenenti ApoB), e in alcuni organi, anche se in misura minore, attraverso un uptake dei suoi esteri da parte delle HDL. È stato ipotizzato che queste ultime potrebbero avere un ruolo anche nel rilascio cellulare del colesterolo (Brown e Goldstein, 1986).

Ci sono diverse evidenze sperimentali che fanno presupporre l'esistenza di un "trasporto inverso" del colesterolo, vale a dire dalle cellule periferiche, al fegato o alle cellule steroideogeniche. Tale trasporto avviene almeno secondo due meccanismi differenti:

1. un efflusso cellulare di colesterolo detto di "diffusione-mediata non-specifica" che avviene in quanto il colesterolo "desorbito" dalle cellule, può essere captato da diversi accettori extracellulari incluse varie lipoproteine e albumine; il passaggio del colesterolo libero della superficie cellulare agli accettori (esempio alle HDL) può avvenire in quanto l'enzima LCAT (Lecitina-Colesterolo Aciltransferasi), promuovendo l'esterificazione extracellulare del colesterolo sulle HDL, garantisce un gradiente colesterolo libero/colesterolo esterificato, tra la superficie delle lipoproteine e la membrana cellulare (Johnson et al., 1986; Johnson et al., 1988; Fielding e Fielding, 1981; Kilsdonk, 1993);

2. un processo apolipoproteina-mediato, che genera HDL di neoformazione mediante la rimozione di fosfolipidi e colesterolo dalla membrana cellulare; la reazione ha inizio dall'interazione tra apolipoproteine elicoidali, molto povere in sostanze lipidiche, con la superficie cellulare e prosegue con l'assemblaggio delle HDL con i fosfolipidi e il colesterolo della membrana cellulare nelle HDL in formazione (Yokoyama, 2000).

Escrezione epatica del colesterolo

Il fegato promuove l'escrezione del colesterolo in 2 modi:

1. mediante conversione parziale del colesterolo epatico in acidi

biliari “primari”, quali l’acido colico e l’acido chetodesossicolico; 2. mediante secrezione diretta del colesterolo nella bile.

La secrezione diretta è resa possibile dal potere solubilizzante degli acidi biliari. Sia il colesterolo sia gli acidi biliari vengono convogliati nell’intestino attraverso il tratto biliare. Circa il 40-60% del colesterolo intestinale viene riassorbito e la parte rimanente viene escreta attraverso le feci. Il colesterolo viene assorbito quasi esclusivamente nella parte superiore dell’intestino tenue. Gli acidi biliari (circa il 98%) vengono normalmente riassorbiti a livello della parte distale dell’intestino tenue. Solo una porzione trascurabile degli acidi biliari presenti nell’intestino raggiunge il colon e viene escreta attraverso le feci (Grundy, 1994).

Gli acidi biliari vengono veicolati nuovamente nel fegato per mezzo della circolazione portale ed estratti quasi completamente al primo passaggio. Vengono quindi secreti rapidamente nella bile per completare la circolazione enteroepatica.

Nel fegato la conversione del colesterolo in acidi biliari viene inibita da tali acidi mediante soppressione della reazione di limitazione della velocità di sintesi degli acidi biliari, detta 7-alfa-idrossilazione del colesterolo. La velocità del flusso degli acidi biliari nel fegato regola in questo modo il catabolismo del colesterolo e pertanto ne influenza indirettamente le concentrazioni a livello epatico (Grundy, 1994).

Colesterolo e malattie cardiovascolari

La correlazione diretta tra malattie coronariche premature e LDL colesterolo è nota da diversi anni essendo emersa, infatti, già da studi condotti negli anni ’60. Parallelamente le HDL, responsabili del trasporto inverso di colesterolo, rivestono un ruolo diametralmente opposto; queste ultime, infatti, rimuoverebbero il colesterolo dalle pareti dei vasi e, di conseguenza, favorirebbero il catabolismo periferico del colesterolo stesso (Libby et al., 2000).

Nonostante che le considerazioni espresse sopra siano supportate da diverse ed autorevoli evidenze sperimentali, il ruolo del colesterolo nei confronti delle malattie cardiovascolari (CHD) è stato a lungo e a tal punto dibattuto, che negli anni ’90 alcuni studiosi mettevano in dubbio addirittura l’opportunità del trattamento farmacologico per l’ab-

bassamento del livello serico di colesterolo stesso. Tali studiosi ritenevano pericoloso e azzardato abbassare farmacologicamente il livello serico di colesterolo, in quanto da alcuni studi era emerso che, a fronte di una diminuzione della mortalità collegata alle CHD, si registrava un innalzamento della mortalità per altre cause (Oliver, 1991).

Allo stato attuale delle cose pare tuttavia appurato che l'utilizzo di farmaci efficaci nel ridurre l'azione dell'enzima HMG-CoA, comporta un netto abbassamento del livello di colesterolo e limita fortemente l'incidenza delle CHD. L'abbassamento del livello serico di colesterolo conseguente a trattamento farmacologico con HMG-CoA inibenti, è dovuto ad una combinazione di effetti derivanti, da un lato, dall'aumento dei recettori di superficie per le LDL e, dall'altro, da una riduzione della sintesi dei precursori delle LDL stesse a livello degli epatociti e delle cellule dell'epitelio intestinale (Sheperd et al., 1995; Sacks et al., 1996).

Gli studi che confortano tali considerazioni sono numerosi e, nel complesso, dimostrano che l'utilizzo di inibitori della HMG-CoA riduttasi determina una diminuzione delle LDL che varia dal 20 al 60% e una parallela riduzione degli eventi coronarici pari ad un terzo. Unitamente alla diminuzione di LDL, gli inibitori della HMG-CoA riduttasi determinano un aumento delle HDL pari al 5-8% (Libby et al., 2000).

Come è stato più volte ricordato in precedenza, il colesterolo alimentare da diversi anni è ritenuto avere una correlazione positiva con l'incidenza delle CHD; infatti, le linee guida dettate da diversi organismi, che si occupano di salute pubblica e di alimentazione, raccomandano una sua riduzione ed indicano in 300 mg di ingestione giornaliera di colesterolo proveniente dagli alimenti il limite che sarebbe opportuno non superare. Le basi scientifiche sulle quali si fondano queste indicazioni sono sostanzialmente ascrivibili a tre grandi gruppi:

1. studi su animali;
2. studi epidemiologici;
3. studi clinici.

Gli studi condotti sugli animali, riportano prima di tutto una correlazione specie-specifica tra colesterolo alimentare e colesterolo ematico; esistono, infatti, specie come il coniglio, che, alimentate con una dieta molto ricca in colesterolo, manifestano un aumento

di colesterolo serico e, conseguentemente, dell'incidenza delle CHD, mentre altre, come cane e topo, che, in risposta al medesimo regime alimentare, non mostrano un significativo aumento del colesterolo totale e delle CHD (Rudel, 1997).

Un secondo aspetto che emerge dagli studi condotti sugli animali è che il pool di lipoproteine è molto variabile a seconda delle specie; ne esistono alcune, come l'uomo, che denotano un pattern caratterizzato da una netta prevalenza delle LDL sulla HDL, mentre altre mostrano una distribuzione del tipo di lipoproteina diametralmente opposta (McNamara, 2000).

Quindi, relativamente alla correlazione tra incidenza delle CHD e il colesterolo di provenienza alimentare, è molto difficile, se non impossibile, estendere all'uomo i risultati delle sperimentazioni condotte su animali (McNamara, 2000).

I numerosi studi di tipo epidemiologico hanno evidenziato correlazioni positive tra colesterolo alimentare e incidenza di CHD; tuttavia tale correlazione raggiunge livelli di significatività statistica solo quando i dati raccolti sono elaborati con una regressione semplice (Kromhout et al., 1995). Se invece gli stessi dati sono analizzati con una regressione multipla, inserendo nel modello anche fattori quali il livello di fibra, di vegetali e di oli vegetali nella dieta e l'ingestione di calorie derivanti da acidi grassi saturi, praticamente nessuno studio epidemiologico riporta una correlazione positiva che abbia rilevanza statistica tra il colesterolo alimentare stesso e l'incidenza delle CHD (Pietinen et al., 1999; Toeller et al. 1999).

È quindi molto difficile discernere l'effetto "individuale" del colesterolo sulle CHD da quello di altri fattori, ed anche studi effettuati con questo intento forniscono evidenze sperimentali non univoche e comunque suscettibili di interpretazione (McNamara, 2000).

Nella maggior parte degli studi epidemiologici bisognerebbe quindi parlare, più che del fattore colesterolo in sé sull'incidenza delle CHD, del fattore dieta ipercolesterolemica; infatti, oltre ai fattori la cui presenza nella dieta determina un aumento di CHD, ne esistono anche altri, sopra ricordati, la cui assenza va nella medesima direzione. In definitiva una dieta ricca in colesterolo ed in cui siano carenti o assenti alimenti apportatori di fibra come, la frutta e i vegetali od oli come quello di oliva, determina un aumento del livello serico di colesterolo che non è necessariamente imputabile (o

comunque non lo è unicamente) al colesterolo di provenienza alimentare, ma anche al fatto che quella dieta è deficitaria o priva di elementi ipocolesterolemici (McNamara, 2000).

Dagli studi di tipo epidemiologico è emerso, comunque, che è possibile classificare gli individui in diverse popolazioni a seconda del tipo di risposta a regimi alimentari ricchi in colesterolo: il 75-80% degli individui può essere ascritto ad una popolazione definibile “ipo-risposta” e quindi poco sensibili, mentre il 15-20% manifesta un comportamento opposto (Hegsted et al, 1965; McNamara, 1997).

Da studi di tipo clinico, è emerso invece che, relativamente all’incidenza sulle CHD, più che il livello di colesterolo totale, è importante la qualità dello stesso. Studi miranti alla determinazione del comportamento delle LDL e delle HDL in risposta ad una dieta ricca in colesterolo, hanno infatti evidenziato che il colesterolo alimentare determina un generale aumento del colesterolo serico totale: difatti, un incremento di 100 mg dell’ingestione giornaliera di colesterolo, causerebbe un aumento del livello serico di colesterolo totale quantificabile in 2.2 – 2.5 mg/dl circa (Clarke et al., 1997). Tale aumento è tuttavia “ripartito” più o meno equamente tra LDL e HDL e quindi non dovrebbe alterare sostanzialmente il rapporto LDL/HDL e, in sostanza, non dovrebbe avere effetti importanti sull’incidenza delle CHD (Clarke et al., 1997).

Infine, studi di popolazione condotti sulla base delle correlazioni tra il contenuto serico (CS) di colesterolo in individui parenti, hanno consentito di stabilire che l’ereditabilità (h^2) per il CS è piuttosto elevata (circa 50%) (Namboodiri et al., 1984). Dagli stessi studi è emerso inoltre che, nonostante l’alimentazione sia la stessa, non c’è correlazione tra il CS di colesterolo in coniugi (Maijala, 2000).

Pertanto, allo stato attuale delle cose, dagli studi epidemiologici e clinici, in generale non è emerso un significativo contributo del colesterolo alimentare all’ateriosclerosi ed al rischio di CHD, salvo che in caso di errori dietetici estremi (McNamara, 2000).

GLI ACIDI GRASSI SATURI

Nei paesi ad economie avanzate, nei quali le patologie derivanti da un non corretto regime alimentare sono maggiormente evidenti, già

dagli anni '80 le linee guida relative ad una corretta alimentazione propongono una riduzione dell'ingestione di acidi grassi saturi (SFA). Diversi organismi internazionali che si occupano di nutrizione affermano che l'energia totale della dieta proveniente dai SFA non dovrebbe essere superiore al 10% (COMA, 1991, COMA, 1994; FAO/WHO, 1998).

Ulbrigh e Southgate (1991) fanno una distinzione piuttosto netta tra acidi grassi ipercolesterolemici e trombogenici: questi autori citano Sinclear (1980), che afferma che il processo di aterosclerosi e quello di trombosi coronarica sono effettivamente due fenomeni differenti. Gli SFA trombogenici non sono esattamente gli stessi considerati aterogenici. Una dieta sbilanciata nel senso di un eccesso di SFA può determinare un aumento del livello serico di colesterolo, che numerosi studi hanno dimostrato essere in relazione ad un'alta incidenza di CHD (Ulbricht e Southgate, 1991; Sellmayer et al., 1999).

La crescita del livello di colesterolo, ed in particolar modo quello delle lipoproteine a bassa densità (LDL-colesterolo), sono importanti nella formazione dell'ateroma (Ulbricht e Southgate, 1991). Le LDL sono importanti in tal senso sia sotto forma di LDL "native" sia sotto quella di LDL ossidate. Le LDL "native" sono infatti assorbite da molti tipi di cellule, con un meccanismo di endocitosi recettore-mediata ed attivano così pathways intracellulari come quello della proteina chinasi (PKC), della proteina chinasi mitosi-attivata (MAP) ed altri ancora, che possono portare all'espressione di fattori pro-aterosclerotici.

Le LDL "native" favoriscono inoltre il rilascio a livello cellulare di acidi grassi quali l'acido linoleico e l'acido arachidonico che possono servire da precursori per gli eicosanoidi o agire come messaggeri intra o extracellulari, modulando pertanto il processo infiammatorio, l'aterogenesi e la risposta mitogenica (Sellmayer et al., 1999).

Inoltre le LDL, depositate nello spazio sub-endoteliale, possono subire un processo di ossidazione per opera dei radicali liberi derivanti dall'ossidazione del colesterolo e dei PUFA presenti nei fosfolipidi o nei trigliceridi; le LDL ossidate possono generare uno stato di vasocostrizione attraverso la riduzione del pool di fattori vasodilatatori (ossido nitrico, PGI_2), aumentando, di contro, i fattori vasocostrittori; le LDL ossidate sono inoltre captate dai macrofagi e

depositate nelle placche (Ulbricht e Southgate, 1991; Sellmayer et al., 1999).

I SFA non manifestano tutti il medesimo comportamento nei confronti dell'aumento del livello serico di colesterolo. Secondo Keys (1965) occorre fare le seguenti distinzioni: gli SFA con meno di 10 atomi di carbonio e l'acido stearico (C18:0) non sembrano influenzare la concentrazione ematica del colesterolo, mentre l'acido laurico (C12:0), il miristico (C14:0) ed il palmitico (C16:0), hanno evidenziato la tendenza ad aumentarla.

Hegsted (1965) fa un'ulteriore distinzione: afferma infatti che l'acido miristico è il più aterogenico e che il suo potenziale di innalzamento del livello di colesterolo è addirittura quattro volte superiore rispetto a quello dell'acido palmitico.

Non è quindi corretto utilizzare il rapporto tra polinsaturi (PUFA) e SFA come indicatore del livello di aterogenicità o dell'influenza sulle CHD di un alimento in quanto, come sopra ricordato, alcuni acidi grassi saturi manifestano delle condizioni di neutralità nei confronti del livello di colesterolo nel sangue e dell'incidenza sulle CHD.

Per quello che riguarda i SFA trombogenici, Ulbricht e Southgate (1991) riportano che nei ratti è stata registrata una correlazione estremamente elevata ($r=0,99$) tra la somma dei tre acidi a catena lunga C 14:0, C 16:0 e C 18:0 e la formazione di trombi. L'acido eicosatrienoico (C 20:3), metabolita della serie degli acidi n-9 (il cui maggior rappresentante è l'acido oleico) che si accumulano in pazienti aterosclerotici e in animali alimentati con razioni carenti in acidi grassi essenziali (EFA) o ricche di SFA, è il solo acido grasso nei fosfolipidi delle piastrine la cui concentrazione è in relazione con il potere agglutinante delle piastrine stesse (Hornstra, 1999).

Per le considerazioni esposte sopra, Ulbricht e Southgate (1991) teorizzano l'esistenza di due distinti incidi, l'Indice Trombogenico (IT) e l'Indice Aterogenico (IA) di seguito riportati:

$$\text{Indice Aterogenico} \\ (aS' + bS'' + cS''')/(dP + eM + fM')$$

dove:

$S' = 12:0$, $S'' = 14:0$ e $S''' = 16:0$; $P =$ somma PUFA $n-3$ e $n-6$;

$M = 18:1$ *cis* 9; $M' =$ somma altri MUFA;

$a \div f$ rappresentano delle costanti empiriche: $b = 4$;

$a, c, d, e, f = 1$.

Indice Trombogenico:

$$(mS^{IV})/[nM + oM' + p(n-6) + q(n-3) + (n-3/n-6)]$$

dove $S^{IV} =$ somma di $14:0$, $16:0$ e $18:0$; $n-6 = n-6$ PUFA;

$n-3 = n-3$ PUFA. $M = 18:1$ *cis* 9;

m, n, o, p e q sono costanti (non conosciute) empiriche:

$m, n, o, p = 0.5$; $q = 3$.

Tali indici, come peraltro affermato dagli stessi autori, non sono completi e sono suscettibili di aggiustamenti in relazione alle nuove evidenze sperimentali.

GLI ACIDI GRASSI MONOINSATURI (MUFA)

Il numero di studi miranti alla determinazione degli effetti dei MUFA sulla salute umana è minore rispetto a quello in cui sono coinvolti i PUFA e riguardano soprattutto l'acido oleico ($C 18:1$ *cis* 9), che è, peraltro, un componente importante della cosiddetta dieta mediterranea.

Esistono diversi studi che affermano che i MUFA sono in grado di ridurre il livello serico di colesterolo in maniera analoga ai PUFA ma, al contrario dei PUFA $n-6$, non abbassano il livello di HDL (Ulbricht e Southgate, 1991). Questo ultimo aspetto è molto importante perché le HDL esercitano un ruolo protettivo nei confronti delle CHD in quanto, per effetto della loro funzione di trasporto inverso del colesterolo, sono in grado di rimuovere il colesterolo stesso dalle cellule periferiche e di ridurre l'entrata delle LDL nelle pareti dei vasi. Inoltre, sono stati individuati anche altri effetti positivi delle HDL nei confronti delle funzioni vascolari: esse proteggono le LDL dall'ossidazione, riducono la risposta cellulare alle LDL ossidate, riducono la produzione di fattori piastrino-aggreganti, mentre favoriscono la sintesi di prostaciclina che è un potente antagonista dell'aggregazione piastrinica (Sellmayer 1999).

Una ricerca che comparava tre diete, in cui nella prima l'energia proveniva per il 10% dall'acido oleico, nella seconda vi era una prevalenza di isomeri *trans* dello stesso acido e nella terza la base acidica era composta da SFA, ha evidenziato la "superiorità" nei confronti della prevenzione delle CHD della dieta contenente acido oleico; i *trans* hanno dimostrato avere un effetto decisamente negativo, innalzando le LDL ed abbassando le HDL, mentre gli SFA innalzano solamente le LDL (Ulbricht e Southgate, 1991).

Negli ultimi anni si è andata sempre più diffondendo l'opinione che la riduzione della componente satura della dieta deve essere realizzata mediante la sostituzione degli SFA con MUFA anziché con i PUFA, poiché l'introduzione nella dieta di questi ultimi potrebbe comportare degli effetti potenzialmente negativi in relazione alla maggior facilità con i quali i PUFA si ossidano (Nielsen et al., 1995; Williams, 1999).

Il ruolo protettivo degli acidi insaturi in generale e dell'acido oleico in particolare, nei confronti di diverse patologie, è da mettere in relazione al mantenimento dell'integrità funzionale delle membrane cellulari. In generale, una maggiore insaturazione delle membrane cellulari porta ad un incremento della loro fluidità con conseguente aumento del metabolismo cellulare e, inoltre, ad un aumento del tasso di divisione cellulare. È anche vero che non sempre un aumento della funzionalità cellulare nel senso sopra descritto è da ritenersi positivo: nel caso di patologie tumorali in atto, la proliferazione cellulare è senz'altro da evitare (Ackman, 1999).

L'acido oleico non è un acido essenziale; può provenire quindi sia da fonti alimentari, sia da sintesi endogena a partire dall'acido stearico per azione della $\Delta 9$ desaturasi (stearoil-CoA desaturasi). Tale enzima inserisce un'insaturazione in posizione n-9; proprio per questa sua proprietà assume un grande rilievo in merito alla formazione dell'acido *cis*9, *trans* 11 18:2, l'isomero CLA maggiormente rappresentato nei prodotti alimentari provenienti dai ruminanti.

In considerazione di quanto riportato sopra e della definizione data in precedenza per gli alimenti funzionali, gli alimenti che contengono un'elevata quantità di acido oleico possono essere definiti come funzionali relativamente alla riduzione delle CHD (Hornstra, 1999).

GLI ACIDI GRASSI POLINSATURI (PUFA)

Con il termine di acidi grassi polinsaturi si indicano quegli acidi con un livello di insaturazione pari o superiore a due doppi legami. Tra questi sono senz'altro degni di menzione i due acidi grassi essenziali (EFA) linoleico (18:2 *cis* 9, *cis* 12) e α linolenico (18:3 *cis* 9, *cis* 12, *cis* 15), che sono i “capostipiti” rispettivamente delle serie polinsature n-6 ed n-3. Gli acidi linoleico e α -linolenico sono contenuti in quantità differenti nella carne e nel latte. Scoperti 70 anni or sono, rivestono notevole importanza, in primo luogo perché sono precursori dei PUFA ed i loro derivati polinsaturi biologicamente più attivi sono l'acido arachidonico C20:4 n-6 (AA) per la serie n-6, e gli acidi eicosa-pentaenoico 20:5 n-3 (EPA) e docosaesaenoico C 22:6 n-3 (DHA), per la serie n-3. Inoltre assolvono essi stessi importanti funzioni: l'acido linoleico entra, infatti, a far parte dei complessi lipidici che concorrono a formare le barriere di permeabilità dell'epidermide (Downing, 1992), mentre una carenza di acido α linolenico potrebbe rappresentare un significativo fattore di rischio nei confronti di malattie cardiache, tumori e disturbi delle funzioni neurologiche sia nei bambini, sia negli adulti (Horrobin et al., 1999). Cunnane (2000) suggerisce un consumo di 1g/d di acido α linolenico, mentre afferma che il valore di acido linoleico che attualmente si ritiene necessario (vale a dire il 2% dell'energia ingerita), sia da considerarsi sovrastimato.

Occorre anzitutto chiarire il concetto di “acido grasso essenziale”.

Per “essenziale” si intende un acido grasso per il quale l'organismo umano non possiede il corredo enzimatico che ne consenta la formazione. Gli acidi AA, EPA e DHA pur non essendo essenziali in senso stretto, in quanto esistono le vie metaboliche atti a formarli, lo diventano di fatto, in quanto tali vie sono poco efficienti e non garantiscono le quantità necessarie all'organismo; pertanto la quantità prodotta a livello tissutale a partire dai precursori deve essere necessariamente integrata con apporti alimentari.

Gli acidi grassi polinsaturi della serie n-3 ed n-6 svolgono due importanti funzioni:

1. sono coinvolti nei meccanismi di regolazione delle strutture cellulari di tutte le cellule dell'organismo ed in particolar modo di quelle del cervello, della retina e dell'apparato riproduttivo;
2. attraverso reazioni catalizzate dagli enzimi cicloossigenasi e lipoos-

sigenasi generano sostanze ad azione ormone-simile come i trombosani, i leucotrieni e le prostaglandine; queste ultime sono importanti molecole dalle svariate funzioni che vanno dalla contrazione al rilassamento della muscolatura liscia, al controllo della chemiotassi ed alla modulazione delle citochine; (Dyerberg, 1992; Cocchi, 1999).

Spesso, per definire la funzionalità di una membrana biologica, si utilizza il termine di fluidità; sarebbe tuttavia più opportuno sostituire tale termine, che non è fisicamente “misurabile”, anche se ha il pregio di rendere una descrizione “visiva” del fenomeno, con i termini di “ordine molecolare o mobilità” che rappresentano l’ampiezza del moto di un componente e sono misurabili: l’ordine molecolare in gradi, la mobilità in Hz.

Per dare un’idea dell’importanza degli acidi grassi della serie n-3 ed n-6 basti ricordare che la loro somma rappresenta il 20% circa della parte solida del cervello (Cocchi, 1999).

Tuttavia il concetto di acido grasso essenziale non deve essere visto in senso assoluto; a tal proposito non si può infatti tralasciare di ricordare che le riserve corporee di acido linoleico, che in individui adulti sani è caratterizzato da un basso turnover delle sue riserve rispetto al tasso di utilizzazione o alla quantità da essi normalmente ingerita, ammontano, in questa categoria di soggetti, a circa 1.5-2 kg, pari all’ingestione media di un anno. Pertanto, in queste condizioni, l’acido linoleico può essere considerato come non essenziale, nel senso che una sua deficienza a livello alimentare può essere tollerata per settimane o addirittura per mesi (Cunnane, 2000).

Il concetto di essenzialità di un acido grasso andrebbe quindi affiancato da un più “elastico” concetto di “condizione – indispensabile” e “condizione – dispensabile” intendendo con ciò rendere conto del fatto che le “proprietà” di un acido grasso nei confronti della salute umana devono necessariamente essere viste in relazione all’età ed allo stato fisiologico dell’organismo (Cunnane, 2000).

I PUFA DELLA SERIE N-6

Acido arachidonico (AA)

L’acido arachidonico è il più importante fra i PUFA n-6; è molto rappresentato nella carne di varie specie (fig. 11) e, soprattutto, in

quella di daino (86mg/100mg di carne, valore che è circa il doppio di quello di altri tipi di carne). L'AA ha un effetto contrapposto sulla salute umana; come accennato in precedenza, nella fase fetale svolge delle funzioni veramente importanti in quanto una sua carenza comporta rischi di disordini nervosi, psicomotori e dello sviluppo motorio. L'apporto di AA, in particolare, è fondamentale per la nutrizione fetale negli ultimi mesi di gravidanza; nei nati prematuri è bene ricorrere ad opportune integrazioni alimentari o, eventualmente, a trattamenti farmacologici per evitare di incorrere nei gravi squilibri sopra ricordati (Cocchi, 1999).

Di contro l'AA è precursore di tutta una serie di composti biologicamente attivi come gli eicosanoidi del gruppo 2 ed i leucotrieni del gruppo 4. Alcuni composti come le prostaglandine E_2 (PGE_2), appartenenti agli eicosanoidi del gruppo 2, hanno un ruolo importante (e negativo) nell'ambito del processo di risposta immunitaria; inducono infatti il catabolismo delle proteine muscolari associato alla risposta immunitaria stessa (Cook e Pariza, 1998). L'AA è precursore di un altro composto appartenente agli eicosanoidi della serie 2 il Trombossano A_2 (TXA_2), che è un fortissimo aggregante piastrinico; questi sono tutti fattori, pertanto, che favoriscono la formazione di trombi (Ulbricht e Southgate, 1991). Nel momento in cui avviene una lesione di un vaso sanguigno, l'AA è uno dei principali acidi che viene rilasciato dai fosfolipidi per azione di una fosfolipasi; i suoi derivati ossidati, gli eicosanoidi ricordati sopra, possono agire allora come messaggeri intra o intercellulari modulanti il processo infiammatorio, aterogenico e le risposte mitogene (Sellmayer et al., 1999).

I PUFA DELLA SERIE N-3

Acido eicosapentanoico (EPA) e docosaesanoico (DHA)

Sono oramai molti gli studi che hanno evidenziato le proprietà anti aterogeniche, anti trombotiche ed anti infiammatorie degli acidi grassi polinsaturi a lunga catena n-3 (EPA e DHA) la cui principale fonte alimentare è rappresentata dai pesci. I meccanismi con i quali gli acidi grassi della serie n-3 esplicano tali importanti funzio-

ni sono molteplici e, verosimilmente, contribuiscono in maniera sinergica all'effetto finale (Dyerberg, 1992).

Nordoy (1992) riporta che in soggetti sottoposti a regimi alimentari che prevedevano diete arricchite in n-3 si sono registrati cali significativi della colesterolemia VLDL e dei trigliceridi e, a tale diminuzione, non ha fatto riscontro un decremento delle HDL e delle LDL.

L'azione protettiva degli acidi grassi n-3 nei confronti delle CHD su base aterosclerotica si esplica nei confronti dell'interazione tra le piastrine e le pareti cellulari dei vasi; questo è dimostrato dal fatto che gli n-3 consentono di prolungare il tempo di sanguinamento (De Caterina, 1992). Un'interpretazione all'azione antiaggregante degli n-3 può essere ritrovata nel meccanismo di sostituzione dei substrati per gli enzimi cicloossigenasi e lipoossigenasi. In questo processo l'EPA, sostituendosi all'AA, modifica la direzione del flusso della produzione degli eicosanoidi; normalmente questo flusso è indirizzato verso la produzione degli eicosanoidi del gruppo 2 (tra questi il TXA₂, fattore fortemente proaggregante), mentre, dopo tale sostituzione, vengono privilegiati quelli del gruppo 3, la cui azione va nel senso di un potere antiaggregante (fig. 3). Tale teoria non contribuisce tuttavia a spiegare per intero l'effetto protettivo degli n-3.

Un'altra interpretazione dell'influenza degli n-3 sulle CHD può essere trovata nel fatto che tali acidi favoriscono la sintesi dell'ossido nitrico, che influenza sia la funzionalità piastrinica sia quella di vasodilatazione (De Caterina, 1992).

La formazione di una placca ateromatosa è un processo complesso che implica l'interazione della parete vascolare non solo con fattori plasmatici quali le lipoproteine, ma anche con diversi elementi cellulari quali le piastrine ed i leucociti. Gli n-3 si sono dimostrati efficaci nel ridurre o inibire la formazione di lesioni a livello dei vasi sanguigni, probabilmente grazie alle proprietà anti infiammatorie sui componenti delle lesioni stesse; inoltre gli n-3 agiscono sia sulle cellule ematiche in circolo che su quelle della parete vascolare e riducono l'adesività dei neutrofili alle cellule endoteliali (Weksler, 1992).

Nonostante queste riconosciute positive influenze nei confronti delle CHD degli acidi polinsaturi a lunga catena n-3 (EPA e DHA), è stato segnalato che in alcune popolazioni questi aumentano il li-

vello plasmatico di LDL colesterolo; gli alimenti contenenti grandi quantità di questi due acidi non possono quindi essere definiti in assoluto come funzionali nei confronti delle CHD. Tuttavia gli acidi grassi polinsaturi della serie n-3 si sono dimostrati efficaci nel ridurre la pressione sanguigna nei soggetti ipertesi; pertanto gli alimenti arricchiti in n-3 possono essere considerati funzionali in tal senso (Hornstra, 1999).

Da quanto riportato sopra si può rilevare che il ruolo nell'alimentazione umana della componente polinsatura dei lipidi degli alimenti di origine zootecnica è una realtà multifattoriale che va vista in senso globale; qualsiasi tentativo di semplificazione e di individualizzazione del problema porta infatti a delle considerazioni spesso contrastanti che riconducono alla necessità di una visione d'insieme.

Infine, per quello che riguarda il rapporto n-6/n-3 della diete emergono tuttavia due aspetti di tipo generale:

1. le serie n-3 ed n-6 sono tra loro indipendenti: non ci sono "collegamenti" tra l'una e l'altra;
2. le vie metaboliche per la sintesi degli acidi della serie n-3 e n-6 competono per gli stessi enzimi.

Questi due aspetti determinano il fatto che qualsiasi azione che va nel senso della variazione di una delle due componenti il rapporto, influenza direttamente ed immediatamente (ed in direzione opposta) l'altra. Una variazione della dieta che favorisca la produzione di acidi appartenenti alla serie n-3 determina perciò, non solo un aumento degli acidi di detta serie (e dei composti biologicamente attivi che da essi derivano), ma anche una diminuzione degli acidi della serie n-6 (e dei composti biologicamente attivi che da essi derivano). È anche vero che il valore ottimale del rapporto n-6/n-3 e l'effetto di questi acidi grassi sullo stato antiossidante dell'organismo, non sono ancora ben definiti.

GLI ACIDI GRASSI RAMIFICATI

Gli Acidi Grassi Ramificati (AGR) sono acidi la cui struttura presenta una particolarità: la catena carboniosa invece di essere lineare, presenta delle "ramificazioni", vale a dire dei gruppi chimici laterali (fig. 12). A seconda che tali gruppi siano posti in corrispondenza



Fig. 12 Forme *iso* e *anteiso* degli acidi grassi ramificati

del secondo o del terzo atomo di carbonio ω vengono definiti rispettivamente acidi grassi ramificati *iso* ed *anteiso*.

La sintesi degli AGR metil sostituiti avviene per elongazione degli acidi 2-metilbutanoico (serie anteiso) e 3 metilbutanoico (serie iso), mentre i loro “precursori” si producono per transaminazione e successiva carbossilazione di isoleucina e leucina. Gli AGR con un sostituito in un carbonio “pari” possono prodursi per carbossilazione del propionil-CoA (Smith e Duncan, 1979).

L'importanza degli acidi grassi ramificati nei confronti della salute umana non trova larga risonanza nella letteratura scientifica; a ciò fa eccezione l'acido pristanico, al quale vengono imputati diversi effetti negativi. I livelli serici di acido pristanico ed acido fitanico, un suo precursore, sono elevati in pazienti con difetti nella sintesi dei perossisomi ed anche in pazienti con deficienza proteica D-bifunzionale.

I due AGR sopraricordati originano dalla catena fitolica “separata” dalla clorofilla per azione dei microrganismi ruminali; poiché l'organismo umano non è in grado di catalizzare il rilascio del fitolo dalla clorofilla, l'unica fonte di tali acidi pare essere l'assunzione dietetica di prodotti di origine animale che, pertanto, in riferimento a questo particolare aspetto, non rivestono un ruolo positivo. In particolare il grasso di ruminanti, dei pesci e i prodotti lattieri sono fonti non trascurabili di acido fitanico che, per α -ossidazione, è metabolizzato in acido pristanico (Zomer et al., 2000).

GLI ACIDI GRASSI TRANS (TFA)

Gli acidi grassi *trans* sono dei prodotti tipici dei ruminanti; originano infatti dalla bioidrogenazione a livello ruminale della compo-

nente lipidica insatura alimentare. Willett et al. (1993) riportano che circa il 5 % del grasso del latte e della carne è rappresentato da acidi grassi nella forma *trans*; tale dato è sostanzialmente in accordo con i valori riportati dall'Institute of Food Science Technology – UK (IFST) che per i TFA negli alimenti di origine zootecnica riporta valori variabili dal 2 al 9 %.

Gli acidi grassi *trans* si possono inoltre produrre durante il processo di indurimento degli olii vegetali a seguito dell'idrogenazione degli acidi grassi insaturi, ad esempio per la produzione di margarine; isomeri *trans* della medesima origine si possono ritrovare anche in prodotti nella cui preparazione sono utilizzati grassi vegetali idrogenati: biscotti, dolci ecc. È utile sottolineare che in tali prodotti le quantità totali di TFA possono superare anche di molto le quantità prodotte a livello ruminale dalla microflora batterica e quindi presenti in latte e carne.

L'assorbimento e la digestione degli acidi grassi con configurazione *trans* avviene nella medesima maniera degli acidi grassi con configurazione *cis*.

Numerosi studi, anche recenti, hanno messo in evidenza la correlazione che esiste tra TFA e CHD (Kohlmeier et al., 1997; Sanders, 1998; Williams, 2000). Tale associazione può essere interpretata con il fatto che la configurazione “angolare” *trans* fa “rassomigliare” tali acidi a quelli saturi.

Questa correlazione è stata tuttavia oggetto di critiche da parte di alcuni autori per quali gli studi in cui è emersa l'influenza dei TFA sulla CHD sarebbero criticabili, in quanto l'interpretazione dei dati presenta alcuni lati oscuri; Caggiula et al. (1996) affermano infatti che è vero che esiste una correlazione positiva tra isomeri *trans* e CHD, ma che è altrettanto vero che esiste una correlazione positiva molto forte tra isomeri *trans* e SFA; risulta pertanto difficile poter scindere l'effetto degli acidi grassi *trans* da quello degli acidi grassi saturi nei confronti delle CHD (Caggiula e Mustad, 1997). Inoltre tra tutti gli acidi grassi *trans*, una correlazione positiva con le CHD è stata stabilita solo per il *trans*10 18:1 e il *trans*9 18:1. L'acido vaccenico (*trans*11 18:1), che nel latte è preponderante, rispetto agli altri acidi grassi *trans* (fig. 13), non è risultato correlato in misura significativa con la suddetta patologia (Hodgson et al., 1996).

Di seguito viene proposto per punti un quadro delle considera-

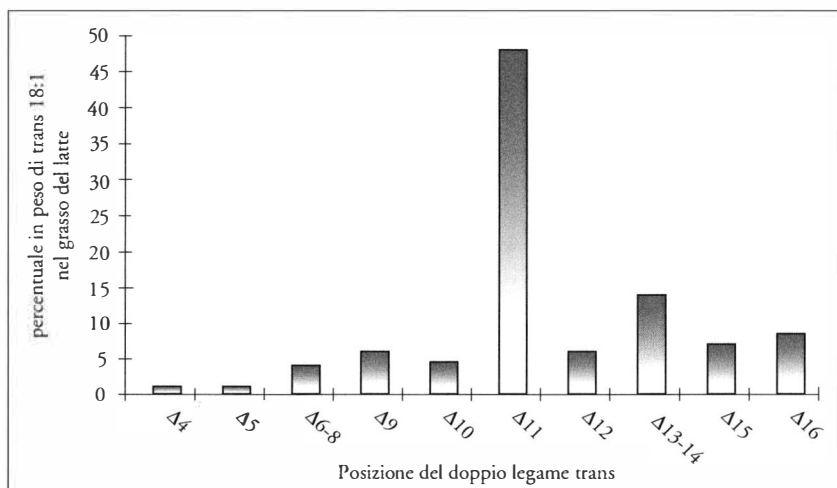


Fig. 13 Distribuzione degli isomeri trans C18:1 nel grasso del latte (Wolff et al., 1998)

zioni sui TFA fatte in numerosi studi condotti negli ultimi anni e dai quali emerge il ruolo (non sempre ben definito) di tali isomeri nei confronti della salute umana:

1. nei tessuti adiposi dei soggetti deceduti a causa di CHD sono stati trovati quantità di isomeri *trans* superiori alla media;
2. gli isomeri *trans* entrano in competizione con il sistema enzimatico responsabile della produzione degli PUFA n-3 ed n-6 a partire dagli EFA;
3. i TFA inducono un cambiamento della concentrazione ematica del colesterolo; infatti, in un range di ingestione di TFA compreso tra il 3 e l'11% dell'energia totale della dieta l'Institute of Food Science and Technology – UK (IFST) afferma che esiste una relazione dose-dipendente tra TFA e livello di colesterolo: un aumento dell'1% nell'energia totale ingerita derivante da TFA (a spese dell'acido oleico) determina un aumento delle LDL pari a 0.04 mmol/l e una diminuzione delle HDL pari 0.013 mmol/l, corrispondenti ad una riduzione dell'1% delle HDL e ad un aumento dell'1% delle LDL; come già ricordato i TFA concorrono ad aumentare le LDL (che costituiscono un fattore di rischio nei confronti delle CHD) ma, a differenza dei SFA, diminuiscono anche le HDL (che hanno invece un effetto benefico sulle CHD) (Sanders, 1998; Williams, 2000);

4. i TFA possono favorire l'incremento della concentrazione ematica delle lipoproteine (a), che alcuni ricercatori considerano essere un fattore indipendente di CHD;
5. la letteratura non è concorde nel definire l'associazione tra consumo di TFA e cancro della mammella post menopausa; Kohlmeier et al. (1997) affermano che, in un loro studio condotto su donne europee, hanno rilevato un'associazione tra cancro del seno post menopausa e TFA nei depositi adiposi; gli stessi autori fanno notare, tuttavia, che questi risultati andrebbero validati da ulteriori studi che verifichino tale aspetto su altre popolazioni considerando inoltre il concomitante ruolo (negativo) degli SFA e (positivo) dei MUFA;
6. di grande interesse sono le conclusioni a cui giunge Williams (2000), che riporta di aver verificato che il consumo di TFA derivanti da olii o grassi vegetali (idrogenazione degli acidi grassi insaturi degli olii vegetali per ottenere le margarine), contribuisce ad aumentare il rischio di CHD; l'ingestione di TFA derivanti da prodotti animali, al contrario, non ha mostrato tale effetto negativo; l'autore afferma inoltre che l'effetto negativo dei TFA riportato sopra può essere esteso al consumo di biscotti e dolci, ma non ai derivati del latte e della carne; questo fenomeno può essere spiegato con le differenti composizione di TFA fra prodotti di origine animale e olii e grassi vegetali;
7. Kummerow et al. (2000) affermano che una dieta inadeguata in magnesio associata con TFA può incrementare il rischio di calcificazione delle cellule endoteliali dei vasi sanguigni;
8. alcuni TFA sono precursori di acidi grassi che svolgono un importante ruolo per la salute umana, gli isomeri coniugati dell'acido linoleico (CLA).

Gli isomeri coniugati dell'acido linoleico (CLA)

La presenza nel latte di acidi grassi coniugati era già nota nel 1935 essendo stato osservato un notevole assorbimento ultravioletto a 230 nm. Questo valore era caratterizzato da una oscillazione a seconda della stagione in cui il latte veniva prodotto, arrivando a puntualizzare che il massimo era raggiunto nel periodo in cui le vacche erano tenute al pascolo (Parodi, 1977). La scoperta del CLA, però, è relativa-

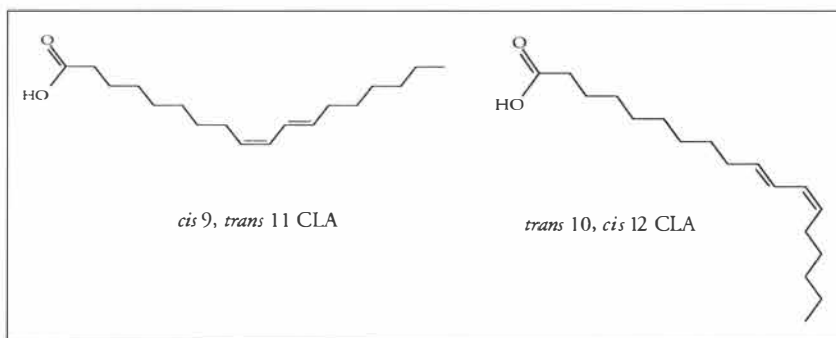


Fig. 14 Isomeri del CLA più comuni nei prodotti di origine animale

mente recente. Nel 1979 Pariza osservò la presenza nella carne di hamburger di una sostanza con attività anti-mutagenica, che, testata sui ratti, si dimostrò in grado di inibire alcune forme di tumore chimicamente indotte. Poco tempo dopo fu identificata in una serie di isomeri posizionali e geometrici dell'acido linoleico contenenti due doppi legami coniugati; per semplicità questo gruppo di molecole viene chiamato con l'acronimo di CLA. Gli isomeri posizionali fino a questo momento identificati e caratterizzati sono: il 7/9, l'8/10, il 9/11, il 10/12, l'11/13 e 12/14, ma la loro geometria può essere sia *cis-cis*, che *cis-trans*, *trans-cis* o *trans-trans* per un totale di ben 24 combinazioni. Fra questi, però, il *cis*9, *trans*11 ed il *trans*10, *cis*12 sono quelli predominanti nei tessuti e nei prodotti animali (fig. 14).

Negli ultimi anni tra l'altro si sono venute affinando sempre più le tecniche analitiche volte all'individuazione dei singoli isomeri dei CLA nelle diverse matrici alimentari; sono state utilizzate tecniche analitiche gascromatografiche con colonne capillari ad elevata polarità, HPLC con colonne a ioni di argento, più tecniche in combinazione (Bauman D.E. et al., 1999).

L'interesse della comunità scientifica verso questo composto è legato strettamente alla sua attività biologica e la National Academy of Science (NCR, 1996) ha definito il CLA come «l'unico acido grasso che mostra in maniera inequivocabile attività anticarcinogena in esperimenti realizzati su animali». Questa molecola, inoltre, si è dimostrata attiva anche in altre patologie come l'aterosclerosi, il diabete, l'obesità, mostrando elevate capacità di interferire positiva-

mente con il sistema immunitario. Gli studi, però, sono ancora all'inizio e spesso i risultati ottenuti riguardano prove in vivo su animali o in vitro su culture cellulari umane. Riguardo le modalità con le quali il CLA agisce, è stato presto messo in evidenza che la sua attività biologica è da attribuirsi ai singoli isomeri piuttosto che all'intero pool. Per quanto riguarda l'attività anticarcinogena, solo gli isomeri *cis* 9, *trans* 11 e *trans* 10, *cis* 12 si sono rivelati attivi e probabilmente non è da escludere un'azione sinergica dei due (McGuire et al., 1999). Nel caso del carcinoma della mammella la sua azione è dose dipendente e si esalta al massimo se viene assunto durante il periodo dello sviluppo di questo tessuto (Ip et al., 1997); gli stessi risultati si hanno nel caso del tumore all'intestino e alla prostata (McGuire et al., 1999; Pariza e Cook, 2001). Il meccanismo d'azione non è ben noto, soprattutto perché si esplica durante stadi diversi dello sviluppo del cancro. Si sa con certezza che compete con il LA riducendo la formazione dell'acido arachidonico (AA), precursore degli eicosanoidi che svolgono un ruolo importante nella carcinogenesi. Il CLA, infatti, può essere metabolizzato come il LA originando altri acidi a lunga catena che mantengono la coniugazione ed interferiscono con la sintesi degli eicosanoidi e della prostaglandina E. Esperimenti su cavie da laboratorio hanno permesso di osservare la distribuzione del CLA all'interno dei lipidi evidenziando un'esterificazione preferenziale nella posizione *sn*2 del trigliceride. Analogo comportamento è tenuto dai suoi metaboliti, fatta eccezione per il C20:4 coniugato che si dispone nei fosfolipidi, ma a differenza dell'arachidonico, suo isomero posizionale che si trova nella fosfatidilcolina, si lega nella fosfatidilserina. I risultati ottenuti utilizzando sia il *cis* 9, *trans* 11 che il *trans* 10, *cis* 12 non differiscono in maniera significativa, ma è da notare che diverso è il loro comportamento nella cascata dei metaboliti; infatti, mentre il *cis* 9, *trans* 11 arriva fino alla sintesi del C20:4, nel caso dell'isomero *trans* 10, *cis* 12 si ha un accumulo del linolenico coniugato C18:3 dovuta ad un blocco dell'elongasi (Banni et al., 2001). Anche quando il CLA è ossidato, sembrerebbe avere una attività anticarcinogena a causa della sua citotossicità (Basu et al., 2000).

Secondo Banni (2001), pertanto, il *cis* 9 *trans* 11, oltre a modulare l'incorporazione dell'acido arachidonico, induce l'aumento di retinolo (Vitamina A); l'attività dei CLA sulla sintesi degli ecosa-

noidi e l'aumento di retinolo tissutale potrebbero rappresentare i fattori chiave per spiegare i suoi effetti pleiotropici.

Alcune prove sperimentali effettuate su ratti, dimostrerebbero che l'isomero *cis* 9, *trans* 11 è un promotore della crescita agendo positivamente sull'efficienza di utilizzo dei nutrienti, senza modificare la composizione corporea. Al contrario, l'isomero *trans* 10, *cis* 12 modifica la composizione corporea facendo aumentare la massa magra e riducendo quella grassa. Esso, infatti, impedirebbe l'introduzione dei lipidi nelle cellule degli adipociti interferendo con l'attività degli enzimi lipoproteinlipasi e stearoyl-CoA desaturasi; in quest'ultimo caso oltre ad agire direttamente sull'enzima inibendolo, impedirebbe anche la trascrizione del gene con un meccanismo al momento sconosciuto. L'attività esercitata da questi isomeri non sembrerebbe essere collegata ai loro metaboliti, ma esplicita mediante azione diretta di loro stessi nei confronti dei rispettivi target (Pariza, 2001).

Fra le attività dei CLA (isomeri *cis* 9, *trans* 11 e *trans* 10, *cis* 12) si ritrovano anche quella antiaterogena ed ipocolesterolemica in quanto è stata osservata una diminuzione del tasso di colesterolo LDL nel plasma con conseguente decremento della formazione di placche aterosclerotiche in ratti alimentati con diete arricchite con questo acido grasso. Anche in questo caso il meccanismo non è del tutto chiaro ma sembra che il CLA, in competizione con l'arachidonico, che è responsabile della sintesi di fattori promotori dell'aggregazione delle placche aterosclerotiche (TXA₂) inibisca la ciclossigenasi che è un enzima attivo nella cascata dell'arachidonico.

Gli effetti positivi sul diabete sono correlati al miglior utilizzo del glucosio presente nel plasma ed ad una maggiore efficienza dell'insulina, ma anche in questo caso il meccanismo non è noto. Alcuni studi effettuati su di un gruppo di 127 volontari umani, hanno evidenziato una correlazione positiva fra la quantità di *cis* 9, *trans* 11 presente nel sangue e nel tessuto adiposo ed il consumo di latte. Nei ratti un elevato consumo di CLA nella dieta, fornito sotto forma di burro arricchito, comporta un arricchimento in questo acido nei tessuti anche dovuto alla desaturazione del vaccenico (VA, *trans* 11 C18:1) ad opera della Δ 9 desaturasi. Niente esclude che ciò possa avvenire anche nell'uomo, essendo il latte ricco in entrambi gli acidi grassi (Jiang et al., 1999).

Visti i benefici effetti del CLA e la naturale predisposizione dei ruminanti a sintetizzarlo, molto interessante sarebbe riuscire ad incrementarne il contenuto nel latte attraverso una via naturale senza, cioè, addizionarlo al prodotto finito.

Questo passa attraverso una più approfondita conoscenza dei meccanismi di sintesi dei CLA nel latte e nei lipidi tissutali.

CONTENUTO DI CLA NELLA CARNE E NEL LATTE DEI RUMINANTI

Nella carne dei ruminanti il contenuto di CLA varia dal 2.9 al 4.3 mg/g di grasso (il valore più alto è per la carne di agnello 5.6 mg/g di grasso e quello più basso per il vitello 2.7 mg/g di grasso) ed il 76% di esso è costituito dall'isomero *cis*9, *trans*11. Nei non ruminanti come il suino ed il pollo o nei prodotti ittici il tasso di questo acido grasso è molto inferiore, fatta eccezione per il tacchino che ha una concentrazione di 2.5 mg di CLA/g grasso. Il latte ed i suoi derivati, invece, sono molto ricchi di queste sostanze; il latte di vacca contiene mediamente 5.5 mg di CLA/g grasso e quello contenuto nei derivati lattiero caseari oscilla dal 2.9 al 7.0 mg/g grasso di cui l'83% è l'isomero *cis*9, *trans*11. Nello yogurt è presente dai 2.5 ai 3.8 mg di CLA/g grasso. Gli oli vegetali, invece, hanno un contenuto di CLA molto minore rispetto ai grassi di origine animale e la distribuzione degli isomeri è differente. In quest'ultimo caso, quelli predominanti sono l'isomero *cis*9, *trans*11 ed il *trans*10, *cis*12, presenti rispettivamente al 43 e 40% (tabelle 15, 16, 17 e 18; Chin et al., 1992).

L'OSSIDAZIONE DEI LIPIDI DELLA CARNE

L'ossidazione dei lipidi nella carne durante la conservazione è il maggior fattore di natura non microbiologica che può incidere negativamente sulla sua qualità. La carne contiene dei fattori endogeni pro-ossidanti (certi enzimi o metalli come ferro e rame) ed antiossidanti, il rapporto reciproco tra i quali determina il livello di ossidazione finale del prodotto.

L'ossidazione dei lipidi inizia dagli acidi grassi insaturi contenuti

ALIMENTO	NUMERO DI CAMPIONI	TOTALE CLA (mg/g GRASSO)	C9, T11 (%)
<i>Formaggi naturali:</i>			
Romano	2	2.9 ± 0.22	92
Parmigiano	4	3.0 ± 0.21	90
Sharp Cheddar	3	3.6 ± 0.18	93
Panna	3	3.8 ± 0.08	88
Medium Cheddar	4	4.1 ± 0.14	80
Colby	3	6.1 ± 0.20	92
Mozzarella	4	4.9 ± 0.20	95
Cottage	3	4.5 ± 0.13	83
Ricotta	3	5.6 ± 0.44	84
Brick	2	7.1 ± 0.08	91
Natural Muenstre	2	6.6 ± 0.02	93
Reduced fat Swiss	2	6.7 ± 0.56	90
Blue	2	5.7 ± 0.18	90
<i>Formaggi lavorati</i>			
American processed	3	5.0 ± 0.13	93
Cheez whiz TM	4	5.0 ± 0.07	92
Velveeta TM	2	5.2 ± 0.03	86
Old English spread TM	2	4.5 ± 0.21	88

Tab. 16 *Contenuto di CLA nei formaggi (Chin et al., 1992)*

in grande quantità nei fosfolipidi delle membrane biologiche (Lercker e Rodriguez-Estrada, 1999) per azione di sostanze che fungono da catalizzatori come il radicale idrossile o il radicale derivato della mioglobina (Maraschiello et al., 1998). Le sostanze generate nella prima fase dell'ossidazione sono degli idroperossidi che si decompongono in prodotti secondari come aldeidi, chetoni, alcol, ed acidi carbossilici a corta catena (Lercker e Rodriguez-Estrada, 1999).

Anche il colesterolo, componente fondamentale delle membrane biologiche, è un lipide insaturo che, alla luce ed in presenza di ossigeno molecolare, può ossidarsi generando degli idroperossidi (chimicamente instabili) che si decompongono in prodotti secondari dell'ossidazione i COPs (dall'anglosassone Cholesterol Oxidation Products).

Fra l'altro la "pericolosità" dei COPs è maggiore rispetto ai prodotti dell'ossidazione degli acidi grassi in quanto, al contrario dei questi, il colesterolo non manifesta il suo stato di ossidazione con componenti maleodoranti volatili (Lercker e Rodriguez-Estrada, 1999).

Sono stati ritrovati almeno 60 diversi prodotti di ossidazione del colesterolo, molti dei quali hanno dei potenti effetti biologici. Alcuni sono citotossici ed angiotossici ed assumono un importan-

ALIMENTO	N. DI CAMPIONI	TOTALE CLA (mg/g GRASSO)	C9, T11 (%)
Latte omogeneizzato	3	5.5±0.30	92
Latte condensato	3	7.0±0.29	82
Cultured buttermilk	3	5.4±0.16	89
Burro	4	4.7±0.36	88
Grasso del burro	4	6.1±0.21	89
Panna acida	3	4.6±0.46	90
Gelato	3	3.6±0.10	86
Dessert congelati non grassi a base di latte vaccino	2	0.6±0.02	ND
Yogurt a basso tenore in grasso	4	4.4±0.21	86
Custard style yogurt	4	4.8±0.16	83
Yogurt intero	2	4.8±0.26	84
Yogurt magro	2	1.7±0.10	83
Yogurt congelato	2	2.8±0.20	85
Cioccolato al latte			
– Campione 1	2	3.5±0.06	76
– Campione 2	2	2.5±0.27	80
Cioccolato doppio	2	3.1±0.48	71
Vaniglia	2	3.8±0.10	84

Tab. 17 *Contenuto di CLA in altri prodotti lattiero caseari (Chin et al., 1992)*

te ruolo nell'aterogenesi; questi, infatti, assorbiti con la dieta, sono stati ritrovati nelle placche ateromatose. I COPs possono inoltre modificare la fluidità e la permeabilità delle membrane cellulari ed inibire la biosintesi del colesterolo (Maraschiello et al., 1998). Altri ossisteroli manifestano proprietà carcinogene e mutagene (Maraschiello et al., 1998).

Nella carne, durante le normali condizioni di frollatura, confezionamento, conservazione e cottura, si assiste ad un aumento anche considerevole degli ossisteroli come risultato dell'aumentata ossidazione dei lipidi e del colesterolo (Li et al., 1996; Maraschiello et al., 1998). Numerosi studi sono stati effettuati in merito: la conservazione in atmosfera modificata (Jacobsen e Bertelsen, 2000), la refrigerazione ed il congelamento, diversi sistemi di cottura (Lercker e Rodriguez-Estrada, 1999) sono tutti aspetti che sono stati valutati al fine di verificarne l'effetto sullo stato di ossidazione della carne.

Lercker e Rodriguez-Estrada (1999) affermano che i livelli di ossisteroli sono rilevanti anche sulle carni fresche e che diversi metodi di cottura hanno dimostrato solo modeste influenze sulla quantità di COPs; Jakobsen e Bertelsen (2000) affermano inoltre che la

ALIMENTO	N° DI CAMPIONI	TOTALE CLA (MG/G GRASSO)	C9, T 11 (%)	T10, C12 (%)
<i>Olio grassi commerciali</i>				
Cartamo	2	0.7 ± 0.14	44	41
Girasole	2	0.4 ± 0.02	38	37
Arachidi	2	0.2 ± 0.01	46	42
Colza	2	0.5 ± 0.07	44	42
Vegetali	2	0.3 ± 0.02	41	39
Mais	2	0.2 ± 0.03	39	37
Cocco	2	0.1 ± 0.01	47	44
Oliva	2	0.2 ± 0.01	47	40
Sego bovino	2	2.6 ± 0.01	84	
<i>Estratti in laboratorio</i>				
Aglio	2	<0.1	n.d.	
Mais	2	0.2 ± 0.01	n.d.	

Tab. 18 *Contenuto di CLA negli oli vegetali e nei grassi animali (Chin et al., 1992)*

qualità “finale” del prodotto è fortemente influenzata dalla qualità “iniziale” della carne.

Un ruolo importante nel proteggere la carne dall'ossidazione dei lipidi e del colesterolo è assunto da antiossidanti naturali quali l' α tocoferolo e da alcuni enzimi come la catalasi la cui attività è stabile alla conservazione; il ruolo dei CLA in tal senso è ancora tutto da verificare.

Un altro composto che si è dimostrato efficace nell'inibire la perossidazione lipidica è l'acido α -lipoico. Si tratta di un composto presente a livello dei mitocondri delle cellule animali nelle quali svolge un ruolo ben conosciuto di cofattore degli enzimi della decarbossilazione ossidativa (Witt e Rustow, 1998) ed è quindi presente soprattutto nei muscoli rossi e, particolarmente, negli animali che praticano intensa attività fisica.

L'acido α -lipoico è una sostanza molto interessante in quanto è una molecola solubile sia in acqua sia nei lipidi, e quindi può agire da antiossidante sia a livello del citoplasma sia a livello delle membrane cellulari; è presente naturalmente nell'organismo umano, anche se in quantità non sufficienti a poter esplicare il suo benefico effetto antiossidante (Kataoka, 1998; Hai-Yenia et al., 2000). L'aumento della sua quantità a livello dei tessuti attraverso gli alimenti sarebbe pertanto auspicabile. L'acido α -lipoico, inoltre, è facilmente assorbito e, una volta inglobato nelle cellule, può essere ridotto a acido diidrolipo-

poico (Kataoka, 1998; Hai-Yenia et al., 2000). Comunque, al contrario di numerose altre sostanze che esplicano il loro effetto antiossidante soprattutto nella forma ridotta, le proprietà antiossidanti dell'acido α -lipoico si esplicano sia nella sua forma originale ossidata sia sotto quella ridotta (Kataoka, 1998; Hai-Yenia et al., 2000).

CONCLUSIONI

Lo spazio dedicato all'illustrazione delle origini, dei processi sintetici e del ruolo che i lipidi del latte e della carne hanno ai fini della definizione della qualità nutrizionale, dietetica e funzionale di questi prodotti, è stato forzatamente ampio perché abbiamo cercato di dare un quadro esauriente delle attuali conoscenze sull'argomento.

In particolare, in riferimento all'obiettivo che ci siamo proposti, di esaminare cioè senza pregiudizi la suddetta problematica, possiamo sottolineare alcuni punti.

Anzitutto si è voluto evidenziare che ciascuno dei lipidi o delle frazioni lipidiche considerate assolvono primariamente funzioni biologiche specifiche, che esplicano in equilibrio fra loro e con altri principi negli organismi viventi.

Solo un'alterazione di questo equilibrio può portare al prevalere degli effetti patologici su quelli fisiologici. È il caso del colesterolo che ha un ruolo fondamentale nel mantenimento dell'integrità funzionale delle membrane cellulari, di cui regola la fluidità e la permeabilità. Nell'uomo, soltanto in soggetti geneticamente predisposti ad una elevata sintesi endogena di questo sterolo e che associano a questo stato una dieta che determina ulteriore apporto di colesterolo e di trigliceridi ricchi di SFA aventi uno spiccato ruolo aterogeno (acidi laurico, miristico e palmitico), si può determinare una condizione negativa per la salute. Soprattutto se nella dieta mancano fattori antiaterogeni quali i MUFA (acido oleico) e i PUFA, soprattutto gli n-3 EPA e DHA.

Ci sembra pertanto che rispetto alla CHD e all'aterosclerosi, che oltre tutto sono patologie ad eziologia multifattoriale, si debba parlare, per quanto riguarda le cause alimentari, di presenza e/o di assenza di effetti associati e sinergici di alcuni principi, che concorrono a rendere inidonea una dieta nel suo complesso.

In altri termini, come precedentemente ricordato, una dieta in cui gli alimenti di origine animale compaiono insieme con vegetali, legumi, olio di oliva, frutta, non solo non deve far temere alcunché, ma può permettere di sfruttare al meglio il ruolo positivo di certe funzioni lipidiche, quali gli isomeri coniugati dell'acido linoleico (CLA), di cui gli alimenti derivati dai ruminanti sono ricchi.

Perciò, il latte e la carne, se presenti nella dieta in misura equilibrata rispetto alle altre componenti della medesima, non solo non sono pericolosi, ma come nel caso dei CLA e degli acidi grassi n-3, possono apportare effetti benefici a chi li assume. Tali effetti si uniscono alle loro ben note funzioni nutrizionali; in questa prima relazione si sono voluti sottolineare, rispetto alla componente lipidica, le loro caratteristiche più nuove e più interessanti. Da un lato per segnalare gli aspetti funzionali del latte e della carne, dall'altro per ricordare invece che, per quanto riguarda i "fattori pericolosi", è forse più opportuno indirizzare la nostra attenzione ad altre categorie di lipidi o a condizioni che possono essere legate ai lipidi, ma di cui questi non sono responsabili primariamente. Ci riferiamo, nel primo caso, al ruolo degli acidi grassi *trans*, complessivamente non positivo, anche se si devono ricordare aspetti che, al contrario, sono di grande rilevanza, quali il fatto che nel latte l'unico *trans* presente in misura elevata è il *trans*11, cioè l'acido vaccenico, precursore dei CLA (i quali sono anch'essi, almeno in parte, degli acidi grassi *trans*); e, nel secondo, all'ossidazione dei lipidi della carne. Abbiamo infatti ricordato che l'ossidazione del colesterolo, che è una molecola lipidica insatura, porta alla formazione dei COPs (Prodotti di Ossidazione del Colesterolo); queste sono sostanze ad azione subdola, in quanto sono inodori e non alterano le caratteristiche organolettiche della derrata alimentare, ma hanno gli effetti temibili precedentemente ricordati sulla salute umana.

La presenza dei COPs nella carne è legata alla filiera di lavorazione e di conservazione della carcassa e delle carni, e su questi fattori e su questi fattori si deve pertanto investigare scientificamente ed intervenire per modificarli in senso positivo.

Le proprietà antiossidanti di un altro lipide, l'acido α -lipoico, che è presente naturalmente nell'organismo umano, ci indica da un lato le risorse di cui disponiamo, e dall'altro, poiché il livello di questo acido nei tessuti non è sufficiente per esplicare un pieno effetto antios-

sidante, che le proprietà di un principio biologico non vanno enfatizzate come se questo agisse da solo nelle diete o nell'organismo.

Bisogna invece sempre considerare che salvo errori dietetici estremi, o a compromissioni gravi dell'organismo, questo, come nel caso dell'acido α lipoico, può disporre di adeguati mezzi di difesa nei confronti di una presenza non soverchiante di prodotti di ossidazione.

Torna ancora, pertanto il concetto di dieta varia ed equilibrata, basata su cibi "naturali", come miglior modo per trarre dagli alimenti in generale e dal latte e dalla carne in particolare, gli effetti nutrizionali, dietetici e funzionali migliori.

Non senza dimenticare che, anche quando mancavano le conoscenze specifiche di ordine biochimico e fisiopatologico e si postulavano motivazioni induttive, a volte fantasiose, già, di fatto, si erano intuite le proprietà del latte – "alimento perfetto" – e della carne, conferendo loro un ruolo allo stesso tempo nutritivo e salutistico, che è quello che noi oggi, con maggiori elementi scientifici di prova, evidenziamo in termini di valore funzionale.

ABSTRACT

Lipids of ruminant milk and meat

Origin, biosynthetic processes and role in defining nutritional and dietetic quality of milk and meat lipids are discussed. Milk and meat lipids (triacylglycerols, phospholipids and cholesterol) contain particular components as butyric acid, mono and polyunsaturated fatty acids, branched chain fatty acids, *trans* fatty acids, conjugated linoleic acid and lipoic acid that play important biological roles alone or in association with other nutrients. A perfect equilibrium among these components allows to obtain positive physiological effects on human health, but if this equilibrium is broken pathological effects may be preponderant. The diet composition is the way to reach this equilibrium, by means the association between ruminant products and fruits, vegetables and olive oil. These foods, in fact, contain substances that may have a synergetic role with PUFA, CLA and lipoic acid included in ruminant products.

BIBLIOGRAFIA

ACKMAN R.G. (1999): *Conjugated linoleic acid (CLA) in lipids of fish tissues*, in YU-RAWECZ M.P., MOSSOBA M.M., KRAMER J.K.G., PARIZA M.W., NELSON G.J.,

- Advances in conjugated linoleic acid research*, AOCS press, Champagn, Illinois, vol. 1, pp 283-295.
- AHKONG Q.F., FISHER D., TAMPION W., LUCY J.A. (1975): *Mechanism of cell fusion*, «Nature», 253, pp. 194-195.
- ALASNIER C., REMINGTON H., GANDEMER G. (1996): *Lipid characteristics associated with oxidative and glycolytic fibres in rabbit muscles*, «Meat Science», 43, pp. 213-224.
- ALONSO L., FONTECHA J., LOZADA L., FRAGA M.J., JUAREZ M. (1999): *Fatty acid composition of caprine milk: major, branched - chain and trans fatty acids*, «J. Dairy Sci.», 82, pp. 878-884.
- ANDERSON M., BROOKER B.E., ANDREWS A.T., ALICHANIDIS E. (1975): *Membrane material in bovine skim-milk from udder quarters infused with endotoxin and pathogenic organisms*, «J. Dairy Res.», 42, pp. 401-417.
- ANDERSON M. and CAWSTON T.E. (1975): *Reviews of the progress of dairy science. The milk-fat globule membrane*, «Journal of Dairy Research», 42, pp. 459-483.
- ANTONGIOVANNI M., ACCIAIOLI A., MARTINI A., SARGENTINI C. (1990): *Risultati di una prova sugli effetti della composizione della dieta sui consumi alimentari e sulle prestazioni produttive dei vitelloni chianini*, Atti convegno nazionale Fossano 8-9/11.
- ANTONGIOVANNI M., BUCCIONI A., MELE M. (2002): *Strategie nutrizionali per il miglioramento della frazione lipidica del latte e della carne*, Giornata di studio su "Latte e carne dei ruminanti: componente lipidica e salute umana", Firenze, Accademia dei Georgofili, Quaderni I-2002.
- ANTONGIOVANNI M. e GUALTIERI M. (1997): *Nutrizione e alimentazione animale*, Edagricole, Bologna.
- ATTAIE R. and RICHTER L. (2000): *Size distribution of fat globules in goat milk*, «J. Dairy Science», 83, pp. 940-944.
- BALDWIN R.L., SMITH N.E., TAYLOR J., SHARP M. (1980): *Manipulating metabolic parameters to improve growth rate and milk secretion*, «J. Anim. Sci.», 51, pp. 1416-1428.
- BANNI S., ANGIONI E., CARTA G., MELIS M.P., MURRU M.E., SCANU P., DESSI M.A., VARGIOLU S., CORONGIU F.P. (2001): *Modulazione del metabolismo lipidico e dei livelli di vitamina A tramite alimenti arricchiti in acido linoleico coniugato*, «Progress in Nutrition», 3 (2), pp. 64-66.
- BANNI S., ANGIONI S., CARTA G., CASU V., MURRU M.E., MELIS M.P., DESSI M.A., VARGIOLU S., CORONGIU F.P. (1999): *Modificazioni nel metabolismo lipidico indotte dall'apporto alimentare dell'acido linoleico a dieni coniugati (CLA) in relazione alla sua attività anti-cancerogena*, «Progress in Nutrition», 1(3-4), pp. 38-48.
- BANNI S., ANGIONI E., CARTA G., MELIS M.P., MURRU E. (2002): *Apporto alimentare di CLA e valutazione degli effetti della loro attività biologica in modelli animali e nell'uomo*, Giornata di studio su "Latte e carne dei ruminanti: componente lipidica e salute umana", Firenze, Accademia dei Georgofili, Quaderni I-2002.
- BANNI S., ANGIONI E., CARTA G., MURRU E., SPADA S., MELIS M.P. (2001): *Lipid metabolism modulation by dietary CLA*, Proceeding of 1st International Conference on Conjugated Linoleic Acid, June 10-13, Alesund-Norway, 22.

- BARBER M.C., CLEGG R.A., TRAVERS M.T., VERNON R.G. (1997): *Lipid metabolism in the lactating mammary gland*, «Bioch. Bioph. Acta», 1347, pp. 101-126.
- BAS P. and SAUVANT D. (2001): *Variations de la composition des depots lipidiques chez les bovins*, «INRAProd. Anim.», 14 (5), pp. 311-322.
- BASU S., SMEDMAN A., VESSBY B. (2000): *Conjugated linoleic acid induces lipid peroxidation in humans*, «FEBS Lett.», 468, p. 33.
- BAUCHART D. (1993): *Lipid absorption and transport in ruminants*, «J. Dairy Sci.», 76, p. 3864.
- BAUER H. (1972): *Ultrastructural observations on the milk fat globule envelope of cow's milk*, «J. Dairy Science», 55, pp. 1375-1387.
- BELYEA R.L. and ADAMS M.W. (1990): *Energy and nitrogen utilization of high vs. low producing dairy cows*, «J. Dairy Sci.», 73, pp. 1023-1031.
- BITMAN J. and WOOD D.L. (1990): *Changes in milk fat phospholipids during lactation*, «J. Dairy Sci.», 73, pp. 1208-1216.
- BLOCH K. (1965): *The biological synthesis of cholesterol*, «Science», 150, pp. 19-28.
- BLOCH K. (1979): *Speculation on the evolution of sterol structure and function*, «CRC Crit. Rev. Biochem.», 7, pp. 1-5.
- BLOCH K. (1983): *Sterol structure and membrane function*, «CRC Crit. Rev. Biochem.», 14, pp. 47-92.
- BLOCH K. (1987): *Summing up*, «Annu. Rev. Biochem.», 56, pp. 1-19.
- BRACCO U., HIDALGO J., BOHREN H. (1972): *Lipid composition of the fat globule membrane of human and bovine milk*, «J. Dairy Sci.», 55, pp. 165-172.
- BROWN M.S. and GOLDSTEIN J.L. (1976): *Receptor mediated pathway for cholesterol metabolism*, «Science», 191, pp. 150-154.
- BROWN M.S. and GOLDSTEIN J.L. (1986): *A receptor mediated pathway for cholesterol metabolism*, «Science», 232, pp. 34-47.
- BROWN M.S. and GOLDSTEIN J.L. (1997): *The SREBP pathway: regulation of cholesterol metabolism by proteolysis of membrane-bound transcription factor*, «Cell», 89, pp. 331-340.
- BROWNING M.A., HUFFIRIAN D.L., EGBERT W.R., JUNGST S.B. (1990): *Physical and compositional characteristics of beef carcasses selected for leanness*, «J. Food Sci.», 55, pp. 9-14.
- BRUNNER J.R. (1974): *Physical equilibria in milk: the lipid phase*, in WEBB B.H., JOHNSON A.H., ALFORD J.A. (Eds.), *Fundamentals of dairy chemistry*, Avi Publishing Company Inc., Wesport, pp. 474-602.
- BUCCIONI A., PETACCHI F., ANTONGIOVANNI M. (2002): *Attività ruminali e presenza di acidi grassi trans e di CLA nei lipidi del latte e della carne*, Giornata di studio su "Latte e carne dei ruminanti: componente lipidica e salute umana", Firenze, Accademia dei Georgofili, Quaderni I-2002.
- CAGGIULA A.W. e MUSTAD V.A. (1997): *Effects of dietary fat and fatty acids on coronary artery disease risk and total lipoprotein cholesterol concentration: epidemiologic studies*, «Am. J. Clin. Nutr.», 65 (suppl.), pp. 1597S-1610S.
- CAMPORESI P. (1993): *Le vie del latte dalla Padania alla steppa*, Garzanti, Milano.
- CAPATTI A. e MONTANARI M. (1999): *La cucina italiana. Storia di una cultura*, Laterza, Roma-Bari.

- CHANDAN R.C., CULLEN J., CHAPMAN D. (1972): *Physicochemical analyses of the bovine milk fat globule membrane. 3. Proton magnetic resonance spectroscopy*, «J. Dairy Sci.», 55, pp. 1232-1236.
- CHILLIARD Y, FERLAY A, MANSBRIDGE RM, DOREAU M. (2000): *Ruminant milk fat plasticity: nutritional control of saturated, polyunsaturated, trans and conjugated fatty acids*, «Annal. Zootech.», 49, pp. 181-205
- CHILLIARD Y. and LAMBERET G. (1984): *La lipolyse dans le lait: les différent types, mécanismes, facteurs de variation, signification pratique*, «Lait», 64, pp. 544-578.
- CHIN S.F., LIU W., STORKSON J.M., HA Y.L., PARIZA M.W. (1992): *Dietary sources of conjugated dienoic isomers of linoleic acid, a newly recognized class of anti-carcinogens*, «J. Food Composition and Analysis», 5, p. 185.
- CHIZZOLINI R., ZANARDI E., DORIGONI V., GHIDINI S. (1999): *Calorific value and cholesterol content of normal and low-fat and meat products*, «Trends in food science and technology», 10, pp. 119-128.
- CHRISTIE W.W. (1995): *Composition and structure of milk lipids*, in *Advanced Dairy Chemistry-2: Lipids*, FOX P.F. (Ed.), Chapman and Hall, London, pp. 1-36.
- CHRISTIE W.W. and CLAPPERTON J.L. (1982): *Structures of cow's milk, fortified milks (including infant formula) and human milk*, «J. Soc. Dairy Technol.», 35, p. 22.
- CLARKE R., FROST C., COLLINS R., APPLEBY P., PETO R. (1997): *Dietary lipids and blood cholesterol: quantitative meta-analysis of metabolic ward studie*, «Br. Med. J.», 314, pp. 112-117.
- COCCHI A. (1993): *Del vitto pitagorico per uso medicina*, in CAMPORESI P. cit.
- COCCHI M. (1999): *Acidi grassi polinsaturi e sviluppo perinatale*, «Progress in nutrition», 1 (1), pp. 3-27.
- COOK M.E. e PARIZA M. (1998): *The role of Conjugated Linoleic Acid (CLA) in health*, «Int. Dairy Journal», 8, pp. 459-462.
- CUNNANE S.C. (2000): *The conditional nature of the dietary need for polyunsaturated: a proposal to reclassify "essential fatty acids" as "conditionally-indispensable" or "conditionally-dispensable" fatty acids*, «Brit. J. Nutr.», 84, pp. 803-812.
- DANTHINE S., BLECKER C., PAQUOT M., INNOCENTE N., DEROANNE C. (2000): *Évolution des connaissances sur la membrane du globule gras du lait: synthèse bibliographique*, «Lait», 80, pp. 209-222.
- DE CATERINA R. (1992): *Acidi grassi n-3: ed interazioni fra piastrine e parete vascolare*, in DE CATERINA R., KRISTENSEN S.D., SCHMIDT E.B (Eds.), *Fish Oil e Malattia Vascolare*, Bi & Gi Editori, Verona, pp. 47-53.
- DE PETERS E.J., GERMAN J.B., TAYLOR S.J., ESSEX S.T., PEREZ-MONTI H. (2001): *Fatty acid and triglyceride composition of milk fat from lactating Holstein cows in response to supplemental canola oil*, «J. dairy Sci.», 84, pp. 929-936.
- DE PETERS E.J., MEDRANO J.F., REED B.A. (1995): *Fatty acid composition of milk fat from three breeds of dairy cattle*, «Can. J. Anim. Sci.», 75, pp. 267-269.
- DEENEY J.T., VALIVULLAH H.M., DAPPER C.H., DYLEWSKI D.P., KEENAN T.W. (1985): *Microlipid droplets in milk secreting mammary epithelial cells: evidence that they originate from endoplasmic reticulum and are precursors of milk lipid globules*, «Eur. J. Cell. Biol.», 8, pp. 16-26.

- DEETH H. (1997): *The role of phospholipids in the stability of milk fat globules*, Australian Food Industry Science Center, Milkfat update conf.
- DEETH H.C. and FITZ-GERALD C.H. (1978): *Effects of mechanical agitation of raw milk on the milk fat globule in relation to the level of induced lipolysis*, «J. Dairy Res.», 45, pp. 373-380.
- DORADO M., MATIN GOMEZ E.M., JIMENEZ-COLMENERO F., MASOUD T.A. (1999): *Cholesterol and fat contents of spanish commercial pork cuts*, «Meat Science», 51, pp. 321-323.
- DOWNING D.T. (1992): *Lipid and protein structures in the permeability barrier of mammalian epidermis*, «J. Lipid Res.», 33 (3), pp. 301-313.
- DYERBERG J. (1992): *Acidi grassi n-3: basi epidemiologiche ed introduzione generale*, in DE CATERINA R., KRISTENSEN S.D., SCHMIDT E.B. (Eds.), *Fish Oil e Malattia Vascolare*, Bi & Gi Editori, Verona, pp. 3-8.
- DYLEWSKI D.P. and KEENAN T.W. (1983): *Compound exocytosis of casein micelles in mammary epithelial cells*, «Eur. J. Cell. Biol.», 31, pp. 114-124.
- EDWARDS P., TABOR D., KAST H.R., VENKATESWARAN A. (2000): *Regulation of gene expression by SREBP and SCAP*, «BBA», 1529, pp. 103-113.
- FERNADEZ X., MOUROT J., MOUNIER A., ECOLAN P. (1995): *Effect of muscle type and food deprivation for 24 hours on the composition of the lipid fraction in muscle of large white pigs*, «Meat Science», 41, pp. 335-343.
- FIELDING C.J. and FIELDING P.E. (1981): *Evidence for a lipoprotein carrier in human plasma catalyzing sterol efflux from cultured fibroblast and its relationship to lecitin:cholesterol acyltransferase*, Proc. Natl. Acad. Sci USA 78, pp. 3911-3914.
- FONTECHA J., RIOS J.J., LOZADA L., FRAGA M.J., JUAREZ M. (2000): *Composition of goat's milk fat triglycerides analysed by silver ion adsorption-TLC and GC-MS*, «Int. Dairy J.», 10, pp. 119-128.
- FORREST G. (1978): *Chemistry and Physics of Lipids* 21, pp. 237-252.
- FRAGA M.J., FONTECHA J., LOZADA L., MARTINEZ-CASTRO I., JUAREZ M. (2000): *Composition of the sterol fraction of caprine milk fat by gas chromatography and mass spectrometry*, «J. Dairy Res.», 67, pp. 437-441.
- FRANKE W.W., HEID H.W., GRUND C., WINTER S., FREUDENSTEIN C., SCHURID E., JARASCH E.D., KEENAN T.W. (1981): *Antibodies to the major insoluble milk fat globule membrane associated proteins: specific location in apical regions of lactating epithelial cells*, «J. Cell. Biol.», 89, pp. 485-494.
- FRANKE W.W. and KEENAN T.W. (1979): *Interaction of secretory vesicle membrane coat structures with membrane free areas of forming milk lipid globules*, «J. Dairy Science», 62, pp. 1322-1325.
- GAGLIOSTRO G., CHILLIARD Y., DAVICCO M.J. (1991): *Duodenal rapeseed oil infusion in early and mid-lactation cows. 3. Plasma hormones and mammary apparent uptake of metabolites*, «J. Dairy Sci.», 74, pp. 1893-1903.
- GEAY Y., BAUCHART D., HOCQUETTE J.F., CULIOLI J. (2001): *Effect of nutritional factors on biochemical, structural and metabolic characteristics of muscles in ruminants, consequences on dietetic value and sensorial qualities of meat*, «Reprod. Nutr. Dev.», 41, pp. 1-26.

- GIBBONS G.F., MOTROPULOS K.A., MYANT N.B. (1982): *Biochemistry of Cholesterol*, Elsevier, Amsterdam, pp. 369.
- GIBSON J.P. (1991): *The potential for genetic change in milk fat composition*, «J. Dairy Sci.», 74, pp. 3258-3266.
- GIGLI S., PIRLO G., MARTOCCIA L. (1990): *Qualità della carcassa e della carne bovina*, «Agr. Ric.», 109, p. 11.
- GRUNDY S.M. (1994): *Principi di medicina interna*, pp. 1068-1083.
- HA J.K. and LINDSAY R.C. (1991): *Contributions of cow's, shepp's and goat's milks to characterizing branched-chain fatty acids and phenolic flavors in varietal cheeses*, «J. Dairy Sci.», 74, pp. 3267-3274.
- HAI-YENIA A., ASSAF P., NASSAR T., KATZHENDLERN J. (2000): *Determination of lipoic acid and dihidrolipoic acid in human plasma and urine by HPLC with fluorimetric detection*, «J. Chrom. A.», 870, pp. 381-388.
- HAMZAWI L.F. (1990): *Role of phospholipids and α -tocoferolo as natural antioxidants in buffalo butterfat*, «Milchwissenschaft», 45 (2), pp. 95-97.
- HEGSTED D.M., MCGANDY R.B., MYERS M.L., STARE F.J. (1965): *Quantitative effects of dietary fat on serum cholesterol in man*, «Am. J. Clin. Nutr.», 55, pp. 1060-1070.
- HEID H.W., WINTER S., BRUDER G., KEENAN T.W., JARASCH E.D. (1983): *Butyrophilin, an apical plasma membrane-associated glycoprotein characteristic of lactating mammary glands of diverse species*, «Biochim. Biophys. Acta», 728, pp. 228-238.
- HODGSON J.M., WAHLQVIST M.L., BOXALL J.A., BALAZS N.D. (1996): *Platelet trans fatty acids in relation to angiographically assessed coronary artery disease, «Atherosclerosis»*, 120, pp. 147-154.
- HOELCHER L.M., SAVELL L.W., SMITH S.B., CROSS H.R. (1988): *Subcellular distribution of cholesterol within muscle and adipose tissues of beef loin steaks*, «J. Food Sci.», 53, pp. 718-722.
- HOFFMANN F. (1993): *«De saluberrima seri Lactis virtutis»*, in CAMPORESI P., cit.
- HORNSTRA G. (1999): *Lipids in functional foods in relation to cardiovascular disease*. «Lipids», 12, pp. S456-S466.
- HORROBIN D.F. and BENNETT C.N. (1999): *Depression and bipolar disorder: relationships to impaired fatty acid and phospholipid metabolism and to diabetes, cardiovascular disease, immunological abnormalities, cancer, ageing and osteoporosis. Possible candidate genes*, «Prostaglandins Leukot. Essent. Fatty Acids», 60 (4), pp. 217-234.
- HUANG T.C. and KUKSIS A. (1967): *A comparative study of the lipids of globule membrane and fat core and of the milk serum of cows*, «Lipids», 6, pp. 453-460.
- HUGGINS J.W., TRENBEATH T.P., CHESNUT R.W., CARRAWAY C.A.C., CARRAWAY K.L. (1980): *Purification of plasma membranes of rat mammary gland: compositions of subfractions with rat milk fat globule membrane*, «Exp. Cell. Res.», 126, pp. 279-288.
- HUSTON G.E. and PATTON S. (1990): *Factors related to the formation of cytoplasmic crescents on milk fat globule*, «J. Dairy Science», 73, pp. 2061-2066.
- IP C., JIANG C., THOMPSON H.J., SCIMECA A.J. (1997): *Retention of conjugated li-*

- noleic acid in the mammary gland is associated with tumor inhibition during the post initiation phase of carcinogenesis*, «Carcinogenesis», 18, pp. 755-759.
- JAHREIS G., FRITSCHÉ J., MOCKEL P., SCHÖNE F., MÖLLER U., STEINHART H. (1999): *The potential anticarcinogenic conjugated linoleic acid, cis-9, trans-11 C18: 2, in milk of different species: Cow, goat, ewe, sow, mare, woman*, «Nutr. Res.», 19 (10), pp. 1541-1549.
- JAKOBSEN M. and BERTELSEN G. (2000): *Colour stability and lipids oxidation of fresh beef. Development of a response surface model for predicting the effects of temperature, storage time, and modified atmosphere composition*, «Meat Sci.», 54, pp. 49-57.
- JENSEN R.G., FERRIS A.M., LAMMI-KEEFE C.J. (1991): *The composition of milk fat*, «J. Dairy Sci.», 74, pp. 3228-3243.
- JIANG J., WOLK A., VESSBY B. (1999): *Relation between the intake of milk fat and the occurrence of conjugated linoleic acid in human adipose tissue*, «Am. J. Clin. Nutr.», 70, p. 21.
- JOHNSON W.J., BAMBERGER M.J., LATTI R.A., RAPP P.E., PHILLIPS M.C., ROTHBLAT G.H. (1986): *The bi-directional flux of cholesterol between cells and lipoprotein: effects of phospholipids depletion of HDL*, «J. Biol. Chem.», 261, pp. 5766-5776.
- JOHNSON W.J., MAHLBERG F.H., CHACKO G.K., PHILLIPS M.C., ROTHBLAT G.H. (1988): *The influence of cellular and lipoprotein cholesterol contents on the efflux of cholesterol between fibroblasts and HDL*, «J. Biol. Chem.», 263, pp. 14099-14106.
- KANNO C. (1980): *Recent studies on milk fat globule membrane with special reference to the constituent proteins*, «Jap. J. Zootech. Sci.», 51, pp. 75-88.
- KANNO C. (1987a): *Characterization of plasma membrane proteins from lactating bovine mammary gland*, «Agric. Biol. Chem.», 51, pp. 1325-1332.
- KANNO C. (1987b): *Lipid composition of plasma membranes isolated from lactating bovine mammary gland*, «Agric. Biol. Chem.», 51, pp. 2995-3001.
- KANNO C. (1990): *Secretory membranes of the lactating mammary gland*, «Protoplasma», 159, pp. 184-208.
- KANNO C., HATTORI H., YAMAUCHI K. (1982): *Isolation and characterization of plasma membrane from lactating bovine mammary gland*, «Biochim. Biophys. Acta», 689, pp. 121-134.
- KANNO C. and KIM D.H. (1990): *A simple procedure for the preparation of bovine milk fat globule membrane and a comparison of its composition, enzymatic activities, and electrophoretic properties with those prepared by other methods*, «Agric. Biol. Chem.», 11, pp. 2845-2854.
- KARIJORD O., STANDAL N., SYRSTAD O. (1982): *Sources of variation in composition of milk fat*, «Z. Tierz. Zuechtungsbiol.», 99, p. 81.
- KATAOKA H. (1998): *Chromatographic analysis of lipoic acid and related compounds*, «J. Chrom. B.», 717, pp. 247-262.
- KEENAN T.W. and DYLEWSKI D.P. (1995): *Intracellular origin of milk lipid globules and the nature and structure of the milk lipid globule membrane*, in Fox P.F. (Ed.), *Advanced Dairy Chemistry-2: Lipids*, Chapman and Hall, London, pp. 89-130.

- KEENAN T.W., MOON T.W., DYLEWSKY D.P. (1983): *Lipid globules retain membrane material after homogenization*, «J. Dairy Sci.», 66, pp. 196-203.
- KEENAN T.W., VALIVULLAH H.M., DUNLEVY J.T. (1989): *Isolation of plasma membranes from mammary gland by two-phases polymer partitioning*, «Anal. Biochem.», 177, pp. 194-198.
- KEYS A., ANDERSON J.T., GRANDE F. (1965): *Serum cholesterol response to change in the diet IV. Particular saturated fatty acids in the diet*, «Metabolism», 14, pp. 776-786.
- KILSDONK E.P.C., DORSAMAN A.N.R.D., VAN TOL A. (1993): *Effect of LCAT on HDL-mediated cholesterol efflux from loaded EA.hy 926 cells*, «Int. J. Biochem.», 25, pp. 219-221.
- KINNEY SWEETEN M., CROSS H.R., SMITH G.C., SMITH S.B. (1990): *Subcellular distribution and composition of lipids in muscle and adipose tissues*, «J. Food Sci.», 55, pp. 43-45.
- KINSELLA J.E. (1972): *Stearyl CoA as a precursor of oleic acid and glycerolipids in mammary microsomes from lactating bovine: possible regulatory step in milk triglyceride synthesis*, «Lipids», 7, pp. 349-355.
- KITCHEN B.J. (1977): *Fractionation and characterization of the membranes from bovine milk fat globules*, «J. Dairy Res.», 44, pp. 469-482.
- KOHLMEIER L. (1997): *Adipose tissue trans fatty acids and breast cancer in the European community multicenter study on antioxidant, myocardial infarction and breast cancer*, «Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.», 6 (9), pp. 705-710.
- KRALJ M. and PIPAN N. (1992): *The role of exocytosis in the apocrine secretion of milk lipid globules in mouse mammary gland during lactogenesis*, «Biol. Cell.», 76, p. 288.
- KROMHOUT D., MENOTTI A., BLOEMBERG B., ARAVANIS C., BLACKBURN H., BUZINA R., DONTAS A.S., FIDANZA F., GIAMPAOLI S., JANSEN A. (1995): *Dietary saturated and trans fatty acids and cholesterol and 25-year mortality from coronary heart disease: the Seven Countries Study*, «Prev. Med.», 24, pp. 308-315.
- KUKSIS A., MARAI L., MYHER J.J. (1989): *Analysis of bovine milk fat triacylglycerols by reversed phase high pressure liquid chromatography and mass spectrometry (LC/MS)*, «J. Am. Oil Chem. Soc.», 66, p. 482.
- KUMMEROW (2000): *Effect of trans fatty acids on calcium influx into human arterial endothelial cells*, «Am. J. Clin. Nutr.», 70 (5), pp. 832-838.
- LAN Y.H., MCKEITH F.K., NOVAKOVSKI J. (1993): *Effects of tenth rib fat thickness on moisture, lipid and cholesterol content of subcutaneous, intermuscular and internal fats*, «J. Muscle Food.», 4, pp. 291-303.
- LERCKER G. e RODRIGUEZ-ESTRADA M.T. (1999): *Acidi grassi polinsaturi negli alimenti: aspetti ossidativi e protezione*, «Progress in Nutrition», 1 (3/4), pp. 66-75.
- LEWIS JR P.K., RAKES L.K.Y., BROWN H.G., BROWN JR A.H., JOHNSON Z., BROWN C.J. (1993): *Effects of maturation rate, marbling and cooking on the fat, cholesterol, and lipids phosphorus composition of beef muscle*, «J. Muscle Food», 4, pp. 41-56.
- LI S.X., CHERIAN G., SIM J.S. (1996): *Cholesterol oxidation in egg yolk powder during storage and heating as affecting by dietary oils and tocopherol*, «J. Food Sc.», 61 (4), pp. 721-725.

- LIBBY P., AIKAWA M., SCHONBECK U. (2000): *Cholesterol and atherosclerosis*, «Biochimica et Biophysica Acta», 1529, pp. 299-309.
- MAIJALA K. (2000): *Cow milk and human development and well-being*, «Liv. Prod. Sci.», 65 (1-2), pp. 1-18.
- MALAU-ADULI A.E.O., EDRISS M.A., SIEBERGE B.D., BOTTEMA C.D.K., PITCHFORD W.S. (2000): *Breed differences and genetic parameters on growth performance, carcass characteristics and fatty acids composition of lot-fed cattle*, «J. Anim. Sci.», 75, pp. 910-919.
- MARASCHIELLO C., ESTEVE E., GARCIA REGUERO J.A. (1998): *Cholesterol oxidation in meat from chickens fed α tocopherol and β carotene-supplemented diets with different unsaturation grad*, «Lipids», 33 (7), pp. 705-713.
- MATHER I.H. (2000): *A review and proposed nomenclature for major proteins of the milk fat globule membrane*, «J. Dairy science», 83, pp. 203-247.
- MATHER I.H. and JACK L.J.W. (1993): *A review of the molecular and cellular biology of butyrophilin, the major protein in bovine milk fat globule membrane*, «J. Dairy Sci.», 76, pp. 3832-3850.
- MATHER I.H. and KEENAN T.W. (1983): *Function of endomembranes and the cell surface in the secretion of organic milk constituents*, in: MEFHAM T.B. (Ed.), *Biochemistry of lactation*, Elsevier, Amsterdam, pp. 231-283.
- MATHER I.H. and KEENAN T.W. (1998): *Origin and secretion of milk lipids*, «Journal of Mammary Gland Biology and Neoplasia», 3, 3, pp. 259-273.
- MC PHERSON A. and KITCHEN B.J. (1983): *Reviews of the progress of Dairy Science: The bovine milk fat globule membrane-its formation, composition, structure and behaviour in milk and dairy products*, «J. Dairy Res.», 50, pp. 107-133.
- MCGUIRE M.A. and MCGUIRE M.K. (1999): *Conjugated linoleic acid: a ruminant fatty acid with beneficial effects on human health*, «Proc. American Soc. Anim. Sci.», 118.
- MCMAMARA D.J. (1997): *Cholesterol intake and plasma cholesterol: an update*, «J. Am. Coll. Nutr.», 16, pp. 530-534.
- MCMAMARA D.J. (2000): *Dietary cholesterol and atherosclerosis*, «Biochimica et Biophysica Acta», 1529, pp. 310-320.
- MEDRANO J.F., JHONSON A., DE PETERS E.J., ISLAS A. (1999): *Genetic modification of the composition of milk fat: identification of polymorphism within the bovine stearoyl-CoA-desaturase gene*, «J. Dairy Sci.», (suppl. 1), p. 71.
- MEHAIA M.A. (1995): *The fat globule size distribution in camel, goat, ewe and cow milk*, «Milchwissenschaft», 50 (5), pp. 260-263.
- MELE M., SERRA A., SECCHIARI P., FERRUZZI G., PISTOIA A., RUSSO C. (2001): *Effect of slaughtering age on CLA isomers content in meat fat of Mucca Pisana calves. Recent progress in animal production science*, 2, Proceedings of the ASPA XIV Congress, pp. 108-110.
- MELE M., SERRA A., MANZO M., PAOLETTI F., SECCHIARI P. (2002): *La sintesi endomammaria di CLA nei ruminanti*, Giornata di studio su "Latte e carne dei ruminanti: componente lipidica e salute umana", Firenze, Accademia dei Georgofili, Quaderni I-2002.
- MISTRY D.H. and MEDRANO J.F. (2002): *Cloning and localization of the bovine*

- and ovine Lysophosphatidic Acid Acyltransferase (LPAAT) genes that codes for an enzyme involved in triglyceride biosynthesis, «J. Dairy Sci.», 85, pp. 28-35.
- MONTAIGNE M. DE (1999): *Giornale di viaggio in Italia*, in CAPATTI e MONTANARI cit.
- MOORE J.H. and CHRISTIE W.W. (1981): *Lipid metabolism in the mammary gland of ruminant animals*, in CHRISTIE W.W. (Ed.), *Lipid metabolism in ruminant animals*, Pergamon Press, pp. 227-277.
- NAKANISHI T. and SUYAMA K. (1972): *The deterioration of milk phospholipids containing amino groups during storage or heat treatment*, «Jap. J. Dairy Sci.», 21 (5), pp. A169-A174.
- NAMBOODIRI K.K., GREEN P.P., KAPLAN E.B., MORRISON J.A., CHASE G.A., ELSTON R.C., OWEN A.R., RIFKIND B.M., GLUECK C.J., TYROLER H.A. (1984): *The Collaborative Lipid Research Clinics Program Family Study. IV. Familial associations of plasma lipids and lipoproteins*, «Am J Epidemiol.», 119 (6), pp. 975-996.
- NATH S.B. and RAMA MURTHY M.K. (1983): *Autoxidative stability of cow and buffalo milk fat triglycerides as influenced by other minor lipid constituents*, «Indian J. Dairy Sci.», 36, pp. 151-156.
- NICKERSON S.C. and KEENAN T.W. (1979): *Distribution and orientation of microtubules in milk secreting epithelial cells of rat mammary gland*, «Cell Tissue Res.», 202, pp. 303-312.
- NIELSEN L.B., LETH-ESPENSEN P.E.R., NORDESTGAARD D.G., FOGED E., KJELDSEN K., STENDER S. (1995): *Replacement of dietary saturated fat with monounsaturated fat: effect on atherogenesis in cholesterol-fed rabbits clamped at the same plasma cholesterol level*, «British Journal of Nutrition», 74, pp. 509-521.
- NIMPF J. and SCHNEIDER W. (2000): *From cholesterol transport to signal transduction: LDL receptor, VLDL receptor, and Apo E receptor-2*, BBA 1529, pp. 287-298.
- NORDOY A. (1992): *What is the clinical evidence for a thrombogenic potential of dietary long-chain fatty acids?*, «Am. J. Clin. Nutr.», 56 (Suppl. 4), pp. 821S-822S.
- NUMBERG K., ENDER B., PAPSTEIN H.J., WEGNER J., ENDER K., NUMBERG G. (1999): *Effect of growth and breed on the fatty acid composition of the muscle lipids in cattle*, «Z. Lebens. Unters. Forsch.», A 208, pp. 332-335.
- OLIVER M.F. (1991): *Might treatment of hypercholesterolaemia increase non-cardiac mortality?*, «The Lancet», 337, pp. 1529-1531.
- PALMQUIST D.L. and BEAULIEU A.D. (1992): *Differences between Jersey and Holstein cows in milk fat composition*, «J. Dairy Sci.», 75 (Suppl. 1), p. 292.
- PALMQUIST D.L., BEAULIEU A.D., BARBANO D.M. (1993): *Fed and animal factors influencing milk fat composition*, «J. Dairy Sci.», 76, pp. 1753-1771.
- PALMQUIST D.L., DAVIS C.L., BROWN E., SACHAN D.S. (1969): *Availability and metabolism of various substrates in ruminants. V. Entry rate into the body and incorporation into milk fat of D(-)β-hydroxybutyrate*, «J. Dairy Sci.», 52, pp. 633-642.
- PARIZA M.W., PARK Y., COOK M.E. (2001): *The biologically active isomers of conjugated linoleic acid*, «Prog. Lipid Res.», 40, p. 283.
- PARODI P.W. (1989): *Some aspects of milk fat triglyceride structure*, in B.B. Rich (Ed.), *Proceedings of developments in milk fat technology seminar*, «Food Res. Inst. Dep. Agric. Rural Affairs», Victoria, Austr. p. 1.

- PARODI P.W. (1977): *Conjugated octadecadienoic acids of milk fat*, «J. Dairy Sci.», 60, pp. 1550-1553.
- PATTON S. and JENSEN R.G. (1975): *Lipid metabolism and membrane functions of the mammary gland*, in HOLMAN R.T. (Ed.), *Progress in the chemistry of fats and other lipids*, Pergamon Press, Oxford, (vol. XIV) part 4, pp. 163-277.
- PEIXOTO DE MENEZES A. and PINTO DA SILVA P. (1978): *Freeze-fracture observations of the lactating rat mammary gland: membrane events during milk fat secretion*, «J. Cell. Biol.», 76, pp. 767-778.
- PIETINEN P., ASCHERIO A., KORHONEN P., HARTMAN A.M., WILLET W.C., ALBANES D., VIRTAMO J. (1999): *Intake of fatty acids and risk of coronary heart disease in a cohort of Finnish men- the alpha tocopherol, beta carotene cancer prevention study*, «Am. J. Epidemiol.», 145, pp. 876-887.
- PINTO DA SILVA P., PEIXOTO DE MENEZES A., MATHER I.H. (1980): *Structure and dynamics of the bovine milk fat globule membrane viewed by freeze fracture*, «Exp. Cell. Res.», 125, pp. 127-139.
- POLIDORI F. (1994): *Il latte dietetico*, Atti convegno "Un alimento antico in viaggio verso il futuro. Biotecnologie e produzione del latte", Torino, 3-4 novembre 1994.
- POLIDORI F., SGOIFO ROSSI C.A., SENATORE E.M., SAVOINI G., DELL'ORTO V. (1997): *Effect of recombinant bovine somatotropin and calcium salts of long-chain fatty acids on milk from italian buffalo*, «J. Dairy Sci.», 80, pp. 2137-2142.
- POLIDORI P., MAGGI G.L., MORETTI V.M., VALFRÈ F. (1993): *Caratteristiche dimensionali e composizionali dei globuli di grasso del latte di bovine di razza Friesa Italiana e Bruna*, Atti 10° Congr. Naz. ASPA, pp. 241-246.
- PRECHT D., MOLKENTIN J., DESTAILLATS F., WOLFF R.L. (2001): *Comparative studies on individual isomeric 18:1 acids in cow, goat and ewe milk fats by low temperature high resolution capillary gas-liquid chromatography*, «Lipids», 36 (8), pp. 827-832.
- RENNER E. and KOSMACK U. (1974a): *Genetic aspects of fatty acid composition of milk fat. 2. Fatty acid pattern of milk from progeny groups*, «Zuechtungskunde», 46, p. 217.
- RENNER E. and KOSMACK U. (1974b): *Genetic aspects of fatty acid composition of milk fat. 3. Genetic correlations with fat content and fat yield*, «Zuechtungskunde», 46, p. 257.
- RESKE J., SIEBRECHT J., HAZEBROEK J. (1997): *Triacylglycerol composition and structure in genetically modified sunflower and soybean oils*, «J. Am. Oil Chem. Soc.», 74, pp. 989-998.
- RUDEL L.L. (1997): *Genetic factors influence the atherogenic response of lipoproteins to dietary fat and cholesterol in non human primates*, «J. Am. Coll. Nutr.», 16, pp. 306-312.
- SACKS F.M., PFEFFER M.A., MOYE L.A., ROULEAU J.L., RUTHERFORD J.D., COLE T.G., BROWN L., WARNICA J.W., ARNOLD J.M., WUN C.C., DAVIS B.R., BRAUNWALD E. (1996): *The effect of pravastatin on coronary events after myocardial infarction in patients with average cholesterol levels. Cholesterol and current events trial investigators*, «New Engl. J. Med.», 335, pp. 1001-1009.

- SANDERS T.A.B. (1998): *Essential and trans fatty acids in nutrition*, «Nutrition Research Reviews», 1, pp. 57-58.
- SECCHIARI P., MELE M., SERRA A., BUCCIONI A., ANTONGIOVANNI M., FERRUZZI G., PAOLETTI F., ANDREOTTI L. (2001b): *Conjugated linoleic acid (CLA) content in milk of three dairy sheep breeds*, «Prog. Nutr.», 3 (4), pp. 37-42.
- SECCHIARI P., ANTONGIOVANNI M., MELE M., BUCCIONI A., SERRA A., FERRUZZI G. (2001a): *Effect of dietary fat on milk fat acidic composition of ewes and cows*, «Liv. Prod. Science.», 70, p. 175.
- SECCHIARI P., BOSELLI E., SERRA A., MELE M., SAVIOLI S., BUCCIONI A., FERRUZZI G., PAOLETTI F. (2001c): *Intramuscular fat quality of wild Fallow Deer (Dama dama) meat*, «Progress in Nutrition», 3 (4), pp. 25-30.
- SECCHIARI P. e MANZO M. (2001d): *Considerazioni generali ed aspetti biochimico-molecolari sulle Encefalopatie Spongiformi Trasmissibili*, in SECCHIARI P. e GIANFALDONI D. (Eds.), *L'emergenza BSE*, Edizioni PLUS, Pisa, 2001, pp. 9-36.
- SECCHIARI P., MELE M., MARTINI M., ANDREOTTI L., FERRUZZI G., SERRA A., SCOLOZZI C., AGHINI-LOMBARDI F., ANTONANGELI L., GRASSO L., GARZELLA G., CIANCI D. (2000) *Effetti della somministrazione di sale iodato sui parametri quanti-qualitativi della produzione di latte in pecore di razza massese*, Atti XIV Congresso nazionale SIPAOC, 18-21 ottobre 2000, pp. 179-182.
- SELLMAYER A., HRBOTICKY N., WEBER P.C. (1999): *Lipids in vascular function*, «Lipids», 34, pp. S13-S17.
- SHARMA K.C., KUMARI A., SAREEN V.K., SINGH S. (1987): *Lipid composition of fat globule membrane from buttermilk and butter serum of buffalo and cow milk*, «Milchwissenschaft», 42, pp. 439-441.
- SHEPHERD J., COBBE S., FORD I., ISLES C., LORIMER A., MACFARLANE P., MCKILLOP J., PACKARD C. (1995): *Prevention of coronary heart disease with pravastatin in men with hypercholesterolaemia*, «New Engl. J. Med.», 333, pp. 1301-1307.
- SHIMIZU M., YAMAUCHI K., KANNO C. (1980): *Effect of proteolytic digestion of the milk fat globule membrane proteins on stability of the globules*, «Milchwissenschaft», 35, pp. 9-12.
- SINCLAIR H. (1980): *Dietary factors and coronary heart disease*, «The Lancet», pp. 414-415.
- SMALL D.M. (1991): *The effects of glyceride structure on absorption and metabolism*, «Annu. Rev. Nutr.», 11, pp. 413-434.
- SMITH A. and W.R.H. DUNCAN (1979): *Characterization of Branched-Chain fatty from Fallow Deer Perinephric Triacylglycerols by gas Chromatography – mass spectrometry*, «Lipids», 14 (4), pp. 350-355.
- SMITH D.P., FLETCHER D.L., BURH R.T., BEYER R.S. (1993): *Peking duckling and broiler chicken pectoralis muscle structure and composition*, «Poultry science», 72, pp. 202-208.
- STONE J.M. and ROWLANDS G. (1952): *“Broken” or “bitty” cream in raw and pasteurised milk*, «J. Dairy Res.», 19, pp. 52-62.
- SWOPE F.C. and BRUNNER J.R. (1970): «J. Dairy Sci.», 53, pp. 691-699.
- THOMÈ K.E. and ERIKSSON G. (1972): *The foaming properties of cream*, «Milchwissenschaft», 52, pp. 554-558.

- TOELLER M., BUYKEN A.E., HEITKAMP G., SCHERBAUM W.A., KRANS H.M.-J., FULLER J.H. (1999): *Eurolab IDDM complication group. Association of fat and cholesterol intake with serum lipid levels and cardiovascular disease: the Eurolab IDDM complication study*, «Exp. Clin. Endocrinol. Diabetes», 107, pp. 512-521.
- ULBRICHT T.L.V. e SOUTHGATE D.A.T. (1991): *Coronary heart disease: seven dietary factors*, «The Lancet», 338, pp. 985-992.
- VANCE D.E. e VAN DEN BOSCH H. (2000): *Cholesterol in the year 2000*, «Biochimica et Biophysica Acta», 1529, pp. 1-8.
- VERNON R.G. and FLINT D.F. (1988): *Lipid metabolism in farm animals*, «Proc. Nutr. Soc.», 47, pp. 287-293.
- WALSTRA P. (1974): *High-melting triglycerides in the milk fat globule membrane: an artefact?*, «Neth. Milk Dairy J.», 28, pp. 3-9.
- WALSTRA P. (1985): *Some comments on the isolation of fat globule membrane material*, «J. Dairy Res.», 52, pp. 309-312.
- WALSTRA P. (1995): *Physical chemistry of milk fat globules*, in FOX P.F. (Ed.), *Advanced dairy chemistry*, Chapman and Hall, London, vol. 2, Lipids, 2nd ed., pp. 131-178.
- WALSTRA P., GEURTS T.J., NOOMEN A., JELLEMA A., VAN BOEKEL M.A.J.S. (1999): *Dairy Technology: principle of milk properties and processes*, Marcel Dekker, New York.
- WALSTRA P. and JENNES R. (1984): *Dairy chemistry and physics*, John Wiley e sons, New York, N.Y.
- WEKSLER B.B. (1992): *Piastrine, leucociti, e aterosclerosi: possibili legami fra gli acidi grassi n-3 e protezione dell'aterosclerosi*, in DE CATERINA R., KRISTENSEN S.D., SCHMIDT E.B. (Eds.), *Fish Oil e Malattia Vascolare*, Bi & Gi Editori, Verona, pp. 47-53.
- WHITE S.L., BERTRAND J.A., WADE M.R., WASHBURN S.P., GREEN J.T., JENKINS T.C. (2001): *Comparison of fatty acid content of milk from Jersey and Holstein cows consuming pasture or a total mixed ration*, «J. Dairy Sci.», 84, pp. 2295-2301.
- WILLETT W.C., STAMPER M.J., MANSON J.E., CODITZ G.A., SPEIZER F.E., ROSNER B.A., SAMPSON L.A., HENNEKENS C.H. (1993): *Intake of trans fatty acids and risk of coronary heart disease among women*, «The Lancet», 341, pp. 581-585.
- WILLIAMS C. (2000): *Dietary fatty acids and human health*, «Ann. Zootech.», 49 (3), pp. 165-180.
- WITT W. and RUSTOW B. (1998): *Determination of lipoic acid by precolumn derivatization with monobromobimane and reverse-phase high-performance liquid chromatography*, «J. Chromatogr. B. Biomed. Sci. Appl.», 705 (1), pp. 127-131.
- WOLFF R.L., PRECHT D., MOLKENTIN J. (1998): *Occurrence and distribution profiles of trans 18:1 acids in edible fats of natural origin*, in SEBEDIO J.L. and CHRISTIE W.W. (Eds.), *Trans fatty acids in human nutrition*, The Oily Press, Dundee, Scotland, pp. 2-33.
- WOLFF R.L., PRECHT D., NASSER B., EL KEBBAJ M.S. (2001): *Trans and cis octadecenoic acid isomers in the hump and milk from Camelus dromedarius*, «Lipids», 36 (10), pp. 1175-1178.
- WOODING F.B.P. (1971): *The mechanism of secretion of the milk fat globule*, «J. Cell Sci.», 9, pp. 805-821.

- WOODING F.B.P. and KEMP P. (1975): *Ultrastructure of the milk fat globule membrane with and without triglyceride*, «Cell. Tissue Res.», 165, pp. 113-127.
- YOKOYAMA S. (2000): *Release of cellular cholesterol: molecular mechanism for cholesterol homeostasis in cell and in the body*, «Biochimica et Biophysica Acta», 1529, pp. 231-244.
- ZOOMER A.W.M., VAN DEN BURG B., JANSEN G.A., WANDERS R.J.A., POLL-THIE B.T., VAN DER SAAG P.T. (2000): *Pristanic acid and Phytanic acid: naturally occurring ligands for the nuclear receptor peroxisome proliferator-activated receptor α* , «J. Lipid. Res.», 41, pp. 1801-1807.

ARIANNA BUCCIONI*, FRANCESCO PETACCHI*,
MAURO ANTONGIOVANNI*

ATTIVITÀ RUMINALI
E PRESENZA DI ACIDI GRASSI TRANS
E DI CLA NEI LIPIDI DEL LATTE E DELLA CARNE

METABOLISMO LIPIDICO NEL RUMINE

Gli studi sul metabolismo lipidico ruminale hanno evidenziato che i due principali processi a cui sono sottoposti i lipidi della dieta a contatto con le popolazioni microbiche sono la lipolisi e la bioidrogenazione (Harfoot, 1978; Jenkins, 1993; Palmquist and Jenkins, 1980). Il primo processo comporta il rilascio di acidi grassi dagli esteri contenuti nella frazione lipidica della razione consentendo così la successiva bioidrogenazione, cioè la riduzione del numero di doppi legami presenti lungo la catena carboniosa. Poiché gli acidi grassi che vengono assorbiti dall'epitelio ruminale o catabolizzati ad acidi grassi volatili (VFA) ed anidride carbonica sono in quantità minime e dal momento che i microrganismi sono in grado di sintetizzare acidi grassi ex-novo dai carboidrati precursori, i lipidi che raggiungono il duodeno sono composti da acidi grassi di origine alimentare e microbica. Lo studio del metabolismo lipidico ruminale nella vacca da latte riveste particolare importanza per due motivi principali:

1. poter controllare gli effetti antimicrobici degli acidi grassi così da consentire l'integrazione della razione con fonti lipidiche, senza andare incontro ai disturbi delle fermentazioni ruminali e dei processi digestivi;
2. poter regolare le bioidrogenazioni al fine di regolare l'assorbimento di specifici acidi grassi che possono esaltare le performan-

* Dipartimento di Scienze Zootecniche, Università degli Studi di Firenze

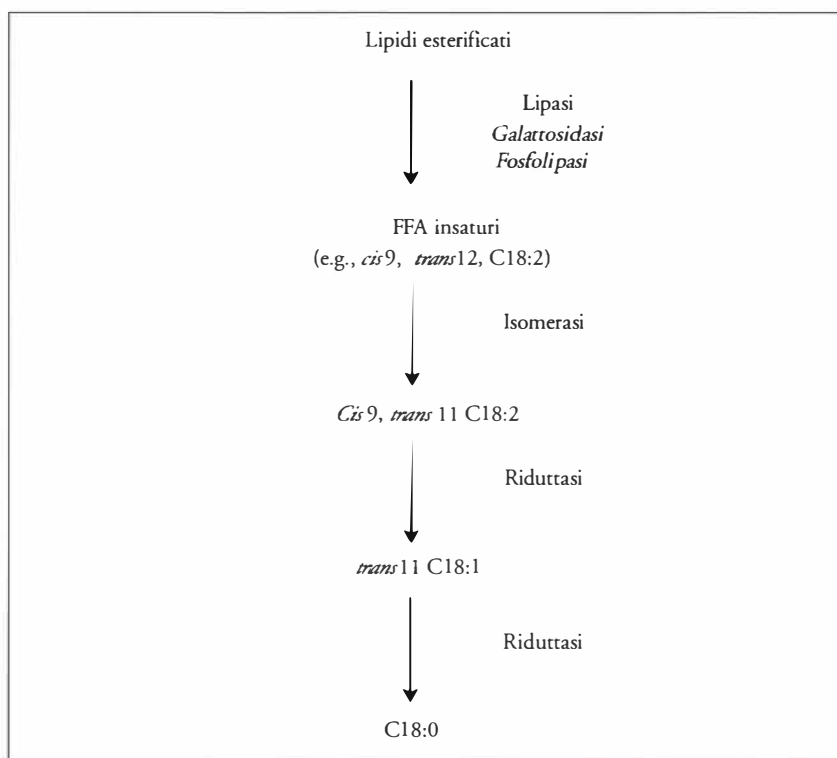


Fig. 1 *Lipolisi e bioidrogenazione*

ces produttive degli animali o migliorare la qualità nutrizionale del latte.

LA LIPOLISI

Poco tempo dopo essere stati ingeriti, gli esteri lipidici contenuti nell'alimento vengono idrolizzati dalle lipasi microbiche che causano il rilascio degli acidi grassi costitutivi (fig. 1). Uno dei batteri meglio conosciuti per la sua attività lipolitica è *l'Anaerovibrio lipolytica* che produce una esterasi di membrana ed una lipasi (Harfoot, 1978). La lipasi è un enzima extra-cellulare assemblato in particelle dotate di una membrana composta da proteine, lipidi ed acidi nucleici (Jenkins, 1993). La lipasi idrolizza completamente i

trigliceridi ad acidi grassi liberi (FFA) e glicerolo, con piccoli accumuli di mono e digliceridi. La glicerina, successivamente, viene fermentata rapidamente ad acido propionico. Sebbene l'attività lipasica di *A. lipolytica* sia elevata, quella esterasica è più bassa rispetto a molti altri batteri non lipolitici. Utilizzando p-nitrofenilpamitato, sono stati identificati 74 ceppi batterici in grado di idrolizzare i legami esterei (Fay et al., 1990); alcuni di questi ceppi, tra i quali *A. lipolytica* e *Butyrivibrio fibrisolvens*, hanno evidenziato bassa attività idrolitica, mentre altri ceppi dotati di attività esterasica, non necessariamente sono risultati in grado di idrolizzare gli esteri lipidici. Infatti, solo alcuni dei numerosi batteri ruminali con attività esterasica (inclusi 30 ceppi di *B. fibrisolvens*) possono idrolizzare gli acidi grassi a catena lunga (LCFA) (Jenkins, 1993).

Gli acidi grassi possono provenire, oltre che dall'idrolisi enzimatica dei trigliceridi, anche da quella dei galattolipidi e fosfolipidi ad opera di diverse galattosidasi e fosfolipasi (fosfolipasi A, fosfolipasi C, lisofosfolipasi e fosfodiesterasi) prodotti dai microrganismi ruminali (Jenkins, 1993). Kemp (Palmquist e Jenkins, 1980) ha identificato ben cinque microrganismi, incluso il *Ruminococcus albus*, che sono in grado di isomerizzare gli acidi grassi con più di un doppio legame.

BIOIDROGENAZIONE

La durata dell'emivita degli acidi grassi insaturi (UFA) liberi nel contenuto ruminale è relativamente breve a causa della loro rapida idrogenazione alla forma satura da parte dei microrganismi. È stato stimato che la riduzione dei PUFA è mediamente compresa fra il 60 ed il 90%. Malgrado l'argomento sia ancora dibattuto, sembra che tale processo venga utilizzato dai microrganismi per proteggersi dagli effetti tossici degli UFA. Questo processo riduttivo contribuisce in piccola parte al riciclo dell'idrogeno metabolico poiché a tale scopo ne viene utilizzato solo l'1-2% (Jenkins, 1993). Nel caso degli UFA che contengono uno dei doppi legami in posizione *cis*-12 (ad esempio l'acido linoleico *cis* 9, *cis* 12 C18:2 e l'acido α -linolenico *cis* 9, *cis* 12, *cis* 15 C18:3) il primo step nel processo di bioidrogenazione consiste in una reazione enzimatica di isomerizzazione che

converte tale legame a *trans* 11 (fig. 1). L'isomerasi funzionerebbe, in generale, solo in presenza della funzione carbossilica libera e nel caso particolare dei PUFA, del diene isolato *cis* 9, *cis* 12. La presenza del carbossile libero rende la lipolisi un pre-requisito per la successiva riduzione; infatti, la lipolisi può essere considerata il "rate determining step" dell'intero processo, cioè il passaggio che ne determina la cinetica. Il passaggio di una piccolissima quota di acidi grassi polinsaturi attraverso la barriera ruminale, potrebbe, quindi, essere dovuto ad una mancata lipolisi. Dopo che si è formato il legame in posizione *trans* 11, una riduttasi microbica opera l'idrogenazione del legame in *cis* 9. La quantità di *trans* 11 C18:1 ridotta a C18:0 viene influenzata dalle condizioni ruminali e dalla concentrazione di acido linoleico (LA) che inibisce irreversibilmente il processo (Harfoot et al., 1973). Moore et al. (1969), infatti, hanno suggerito che grandi quantità di LA non esterificato bloccano il secondo step della bioidrogenazione; ciò non si verificherebbe, invece, nel caso in cui tale acido grasso fosse presente in forma esterificata. Gerson & King (1985) hanno dimostrato che il rapporto fibra amido della dieta degli ovini può influenzare le velocità di lipolisi e bioidrogenazione perché viene, probabilmente, interessata l'attività dei batteri cellulosolitici. Infatti, se viene somministrata una razione in cui la fibra è gradatamente sostituita dall'amido (orzo), la velocità di entrambi i processi diminuisce con conseguente accumulo di C18:1. Incubando acido [^{14}C] linoleico e saccarosio puro nel liquido ruminale proveniente da pecore alimentate con razioni ad elevata concentrazione di fibra, la velocità di riduzione *in vitro* aumenta oltre il 40% con una concentrazione dello zucchero pari allo 0.5%, mentre ripetendo lo stesso esperimento con amido la velocità della lipolisi aumenta e quella della bioidrogenazione rimane inalterata. In definitiva, diversi fattori dietetici possono modificare la composizione e la proporzione dei lipidi nel rumine. Uno di questi, come già accennato, è il contenuto di granello che sembra influenzare particolarmente i processi di bioidrogenazione. È stata osservata, infatti, una diminuzione rispettivamente del 59 e del 63 % dei processi riduttivi a carico dell'acido linolenico (LNA) e linoleico (LA) in diete a basso contenuto di fibra rispetto a razioni caratterizzate da elevati rapporti foraggio/concentrato. Questo effetto sembra sia legato alla riduzione del numero dei batteri cellulosoliti-

ci i quali, come visto, sono responsabili anche dei processi lipolitici che rappresentano il prerequisito delle bioidrogenazioni. Quindi, questo tipo di alimentazione favorirebbe la quota dei lipidi alimentari che riescono ad attraversare la barriera ruminale senza subire la riduzione; il maggior beneficio è tratto dall'acido oleico (*cis* 9 C18:1, OA) e dal LA che sono gli acidi grassi maggiormente rappresentati nella granella di cereali. Gli effetti delle razioni ad elevato contenuto di granella implicano anche alterazioni nella composizione di quella quota di lipidi alimentari che subiscono delle trasformazioni nel rumine. La diminuzione della lipolisi, infatti, aumenterebbe la formazione ruminale di isomeri *trans* del C18:1, come è stato osservato in vacche alimentate con diete ricche in granella di mais (Palmquist e Schanbacher, 1991). Tra gli altri fattori dietetici che diminuiscono la lipolisi e la bioidrogenazione ruminale possono essere ricordati: un basso apporto di azoto nella dieta, l'inclusione di foraggi ad elevato stadio di maturazione e di alimenti troppo finemente macinati. In quest'ultimo caso, come verrà spiegato successivamente, le dimensioni delle particelle alimentari rivestono una particolare importanza in quanto influenzano l'aderenza dei batteri sulla loro superficie ed aumentano la velocità di transito attraverso la barriera ruminale diminuendo il tempo di esposizione all'attività batterica.

Infine, la quantità ed il tipo di grasso aggiunto alla dieta sono altri fattori in grado di influenzare la trasformazione dei lipidi nel rumine. Grassi con elevato contenuto di LA, come l'olio di soia, inibiscono i processi di riduzione ruminale ad acido stearico (C18:0, SA), favorendo un accumulo di prodotti intermedi quali gli isomeri *trans* del C18:1 e soprattutto l'acido vaccenico (*trans* 11 C18:1, VA). Tale fenomeno è ancora più evidente nel caso in cui il LA venga somministrato come acido grasso libero (Moore et al., 1969). L'approccio più comune per consentire il passaggio degli UFA dall'alimento al duodeno evitando le trasformazioni ruminali, consiste nel proteggere la fonte lipidica. Una delle tecnologie più datate è l'incapsulazione con proteine e formaldeide che ha evidenziato significativi aumenti degli insaturi a livello duodenale e di conseguenza nel latte. Un'altra ben nota strategia è l'inclusione nella dieta di semi integrali di piante oleaginose affinché il tegumento possa proteggere l'olio contenuto all'interno. Tuttavia è stato dimostrato che la masticazio-

ne vanifica parzialmente questo tipo di protezione rendendo accessibili le sostanze grasse ai batteri ruminanti (Keele et al., 1989; White et al., 1987; Murphy et al., 1987). I sali di calcio sembrerebbero resistere alle bioidrogenazioni in quanto limiterebbero la disponibilità di gruppi carbossilici liberi. Comunque, l'efficacia della protezione è in stretta relazione con la natura chimica della miscela di acidi grassi utilizzata per produrre i sali; maggiore è il grado di insaturazione delle molecole, più facilmente si verifica la dissociazione del sale nel liquido ruminale e la successiva bioidrogenazione a causa del più alto valore della costante di idrolisi salina (K_{id}). Per questo motivo i sali di calcio di olio di palma hanno mostrato una maggiore resistenza alle trasformazioni ruminanti rispetto ad altri saponi come il linoleato di calcio (Klusmeyer and Clark, 1991; Wu et al., 1991; Wu and Palmquist, 1991; Fotoui and Jenkins, 1992). Un altro approccio per limitare il rilascio di funzioni carbossiliche libere consiste nel convertirli in ammidi. La loro resistenza all'attacco microbico sembra essere dovuta all'ingombro sterico dei sostituenti legati all'azoto (Jenkins, 1993). Se come gruppo amminico si utilizza la metionina, si può conseguire il duplice scopo di proteggere gli UFA ed aumentare il flusso duodenale di questo aminoacido (Langar et al., 1975; Langar et al., 1978).

SINTESI DEGLI ACIDI GRASSI MICROBICI

I lipidi contenuti nei batteri ruminanti sono circa il 10-15% della sostanza secca e provengono in parte dall'alimento degradato (LCFA) ed in parte dalle sintesi ex novo che avvengono nelle cellule microbiche. Il contributo di ciascuna di queste vie dipende dal contenuto di grasso nella dieta e dalle specie batteriche presenti nel liquido ruminale (Jenkins, 1993); infatti, se la concentrazione dei lipidi nella dieta è elevata, viene favorito il trasporto dei lipidi all'interno delle cellule batteriche dove formano goccioline immerse nel citoplasma. La sintesi ex novo degli acidi grassi, invece, conduce prevalentemente alla formazione dello stearico (C18:0) e del palmitico (C16:0) in un rapporto di 2:1 (Bauchart et al., 1990). È da notare, inoltre, che i microrganismi non immagazzinano trigliceridi ma accumulano gli acidi grassi prevalentemente come fosfolipidi ed, in

piccola parte, come acidi grassi non esterificati (NEFA) (Viviani, 1970). Studi approfonditi su i meccanismi biosintetici hanno rivelato che l'assorbimento da parte dei batteri ruminali di acetato e glucosio marcati con ^{14}C conduce alla sintesi di acidi grassi non ramificati caratterizzati da un numero pari di atomi di carbonio mentre il propionato ed il valeriato, anch'essi marcati con ^{14}C , portano alla sintesi di LCFA con la catena carboniosa lineare ma con un numero dispari di atomi di carbonio. Utilizzando, invece, come precursori isobutirrato, isovalerato e 2-metilbutirrato si osserva la sintesi di acidi ramificati nella forma iso ed anteiso. Nei batteri, quest'ultima classe di lipidi rappresenta circa il 20% degli acidi grassi totali ed il 30% di quelli contenuti nei fosfolipidi. L'isomero anteiso C15:0 è quello più rappresentato mentre è possibile ritrovare piccole quantità delle forme iso-anteiso degli acidi con lunghezza della catena da 14 a 17 atomi di carbonio. Gli acidi grassi monoinsaturi (MUFA) che costituiscono circa il 15-20% degli acidi microbici, vengono sintetizzati per via anaerobica. In questa via, il β -idrossidecanoato viene deidratato in β,γ formando un doppio legame in posizione 3 e con isomeria geometrica del tipo *cis* anziché seguire l'eliminazione in α,β che porterebbe alla formazione dell'isomero *trans* 2. Con il doppio legame in posizione *cis* 3, la riduzione successiva ad opera della C_{10} enoil riduttasi non può avvenire permettendo l'elongazione della catena fino al C16:1 e C18:1. Quest'ultimo si può anche formare per desaturazione ad opera di un enzima desaturasi presente nel liquido ruminale (fig. 2) (Jenkins, 1993). Solo i cianobatteri, che sono presenti in piccolissime percentuali, sintetizzano i PUFA; la presenza di questi acidi grassi a livello ruminale è, quindi, dovuta principalmente all'alimento piuttosto che alla sintesi microbica *ex-novo*. I protozoi, invece, incorporano i LCFA sottoforma di lipidi di membrana.

Per semplicità, i batteri ruminali possono essere suddivisi in batteri presenti nella fase liquida (LAB), attaccati alla superficie della particella alimentare (SAB) oppure dispersi (Bauchart et al., 1990). È interessante notare che nel liquido ruminale bovino prelevato da vacche alimentate con razioni grassate, aumenta la concentrazione lipidica totale (prevalentemente fosfolipidi, galattolipidi e acidi grassi liberi), e che il contributo dei SAB è quello più importante. Il meccanismo mediante il quale questo gruppo di batteri riesce ad

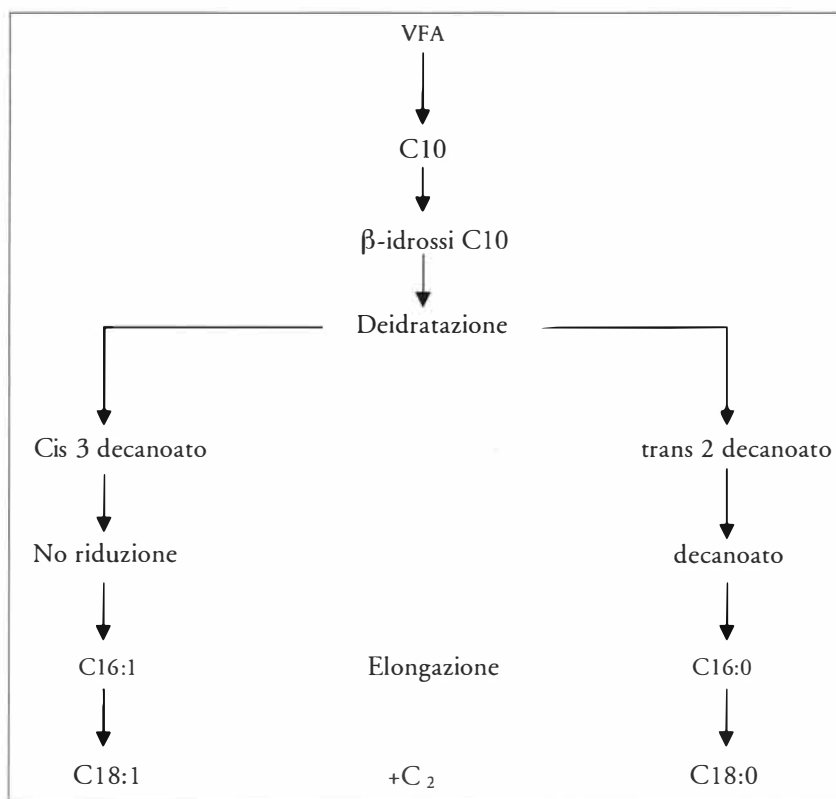


Fig. 2 Sintesi microbica degli acidi grassi saturi e monoinsaturi

incorporare gli acidi grassi presenti nell'alimento è stato discusso a lungo. L'ipotesi più probabile è che le goccioline di acidi grassi liberi (FFA) vengano assorbite sulla superficie della cellula batterica così come avviene per le particelle di cibo e successivamente trasportate all'interno; infatti, nel citoplasma di cellule batteriche incubate in presenza di lipidi sono state osservate goccioline di grasso contenenti FFA, confermando questa ipotesi. Ciò sarebbe ulteriormente provato dal fatto che se il liquido ruminale viene incubato con olio di soia ricco in linoleico (C18:2 n-6), questo acido grasso viene in parte assorbito preferenzialmente dai SAB, dopo essere stato idrolizzato, e si ritrova sotto forma libera all'interno delle suddette goccioline prima senza che sia avvenuta alcuna riduzione; se questa molecola fosse stata semplicemente immobilizzata sulla su-

perficie esterna del batterio, sicuramente sarebbe andata incontro alla idrogenazione dei suoi doppi legami. I LAB, invece, assorbono preferenzialmente gli acidi grassi ramificati (iso ed anteiso) che rendono le membrane cellulari più deformabili.

BILANCIO LIPIDICO NEL RUMINE

Ogni chilogrammo di sostanza secca consumato da un ruminante contiene all'incirca il 4% di grasso grezzo di cui solo il 40% per i foraggi ed il 70% per la granella sono acidi grassi (Palmquist and Jenkins, 1980). Nel rumine, la perdita di acidi grassi è trascurabile come hanno dimostrato alcuni lavori che hanno studiato l'assorbimento dei LCFA attraverso la parete ruminale e la loro degradazione ad AGV e CO₂. Wood et al. (1963) immettendo in un rumine ovino, con lo sfintere reticolare legato, l'acido linoleico marcato trovarono che la degradazione ad acidi grassi volatili era minore dell'1% e che la quantità di linoleico radioattivo presente nel plasma dopo 48 ore era inferiore allo 0.3%. Sono state ipotizzate, però, alcune vie metaboliche che porterebbero alla perdita di acidi grassi dal fluido ruminale. Infatti, l'acido oleico incubato nelle cellule epiteliali del rumine viene assorbito da questo tessuto per il 31.5% e trasportato nel plasma per l'8.2% (Jenkins, 1993). Il palmitico, invece, viene metabolizzato velocemente a corpi chetonici e convertito a C15:0 mediante α -ossidazione e a C13:0, C11:0 con la β -ossidazione (Jesse et al., 1992). Inoltre, più del 90% degli acidi grassi con meno di 14 atomi di carbonio verrebbero assorbiti dalle pareti ruminali. È stato osservato che nel passaggio degli alimenti dalla bocca al duodeno l'eventuale perdita di lipidi si verifica più frequentemente per le diete grassate rispetto a quelle povere in grasso. Sulla base di numerosi studi è stato stimato in 15 g per chilo di sostanza secca digerita nel rumine, il contributo delle sintesi microbiche alla quantità dei lipidi che affluisce al duodeno. La sostanza organica digerita e la presenza dei lipidi nella dieta, infatti, sarebbero gli unici fattori che influenzano le sintesi lipidiche dei microrganismi. In conclusione, mediamente si può ritrovare nel duodeno l'87% degli acidi grassi consumati; questa piccola perdita è spesso compensata dalle sintesi ex novo dei microrganismi che pertanto

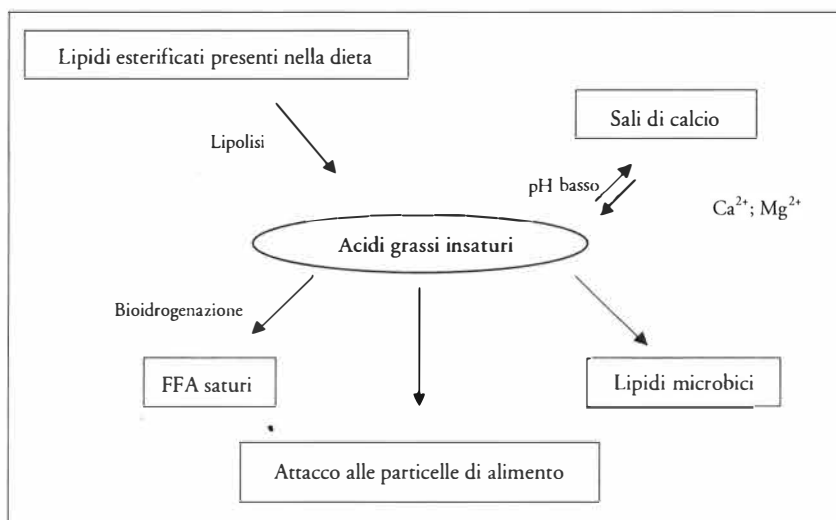


Fig. 3 *Modificazioni ruminali degli acidi grassi insaturi*

comportano un piccolo guadagno durante il passaggio nel rumine. Le cause delle perdite sono ascrivibili al metabolismo lipidico delle cellule dell'epitelio ruminale ed alle degradazioni microbiche (Jenkins, 1994).

EFFETTI DEI LIPIDI SULLE FERMENTAZIONI RUMINALI

L'aggiunzione di lipidi alle diete dei ruminanti può avere effetti negativi sulle fermentazioni ruminali causando una diminuzione della digeribilità delle fonti energetiche non lipidiche. Una quantità di grasso di poco inferiore al 10% nella razione può comportare una riduzione di più del 50% della digestione ruminale dei carboidrati strutturali (Ikwuegbu e Sutton, 1982; Jenkins e Palmquist 1994). Questo fenomeno è accompagnato da una minor produzione di metano, idrogeno, VFA e da un abbassamento del rapporto acetato/propionato (Boggs et al., 1987; Chalupa et al., 1984; Ikwuegbu e Sutton, 1982). Anche il metabolismo proteico può risentire della grassatura della dieta. Infatti, l'infusione di olio di lino nel rumine ovino così come l'aggiunta di olio di mais o lecitina a razioni desti-

nate a pecore da latte hanno evidenziato un decremento della digestione ruminale delle proteine, un abbassamento della concentrazione di ammoniaca ed un aumento del flusso di azoto nel duodeno (Jenkins, 1993).

L'interesse per l'utilizzazione degli integratori lipidici nelle razioni delle vacche da latte ha indotto a verificare gli effetti sulle fermentazioni ruminali di una grande varietà di grassature. Di solito l'influenza esercitata sul metabolismo ruminale dipende da poche differenze di base nella loro struttura lipidica. Il grado di insaturazione è uno di questi; i PUFA, infatti, inibiscono le fermentazioni più degli SFA (Chalupa et al., 1984; Palmquist and Jenkins, 1980). Anche la presenza della funzione carbossilica libera sembra rivestire una certa importanza a questo riguardo: i sali di calcio degli acidi grassi e i derivati degli acidi carbossilici come le ammidi, i trigliceridi e gli alcoli a catena lunga inibiscono le fermentazioni in maniera minore di quanto facciano gli acidi grassi liberi. Gli UFA non esterificati, quindi, rappresentano la frazione lipidica che esercita la maggior influenza sui processi fermentativi. La concentrazione di UFA liberi nel rumine è regolata dalla quantità e dal tipo di grasso nella dieta, dal tasso della lipolisi, dalla bioidrogenazione e dalla formazione di sali carbossilati (fig. 3). Come è stato detto, alte concentrazioni nella dieta aumentano la quantità di lipidi totali nel rumine, tuttavia la possibilità che aumenti il pool di UFA liberi dipende da quanto efficienti sono i processi di lipolisi e di bioidrogenazione o dalla eventuale formazione di sali. Il grado di lipolisi, generalmente, è sufficiente ad idrolizzare in poco tempo la maggior parte dei trigliceridi, sebbene alcuni studi abbiano evidenziato che la lipolisi e la bioidrogenazione vengono alterate in maniera sostanziale dal grado di maturazione dei foraggi, dal contenuto di azoto e dalle dimensioni delle particelle nel rumine.

Il tasso della bioidrogenazione in vitro può variare con la concentrazione dei substrati nel medium di cultura, dal tipo e dalla età dell'inoculo, dalla presenza di alcuni cofattori nel liquido ruminale (Kellens et al., 1986).

La formazione di sali di calcio dipende dalla solubilità del calcio presente nella dieta, dal contenuto di lipidi nella razione, dal pH ruminale, dal grado di saturazione e dalla lunghezza della catena carboniosa dell'acido.

Come già accennato, sono state proposte quattro teorie per spiegare come i lipidi interferiscono con le fermentazioni ruminali: 1) l'assemblaggio fisico della fibra con il grasso rende difficile l'attacco batterico sulla superficie delle particelle di alimento; 2) la modificazione della popolazione microbica a causa degli effetti tossici dei lipidi; 3) l'inibizione dell'attività microbica ruminale a causa di effetti di superficie esercitati dagli acidi grassi sulle membrane cellulari batteriche; 4) la riduzione della concentrazione di cationi in soluzione come conseguenza della formazione di complessi insolubili con acidi grassi a catena lunga, provocando una variazione di attività ionica e quindi di pH nel rumine che influenza la popolazione microbica (Dewendra e Lewis, 1974). Di queste, le prime due hanno ricevuto la maggior attenzione. Per quanto riguarda la prima teoria, è stato osservato che culture pure di batteri sono in grado di assorbire più del 90% degli acidi grassi presenti fino a che non vengano aggiunte particelle di cibo; dopo di che più del 60% di acidi grassi si ritrova associato a tali particelle. Quindi, questa ipotesi spiegherebbe la riduzione delle fermentazioni con la formazione di uno strato lipidico che avvolgendo le particelle di alimento, inibirebbe la digestione della cellulosa. Il contatto fisico fra i microrganismi e le particelle alimentari, infatti, è condizione necessaria per l'attività degli enzimi cellulolitici e lo strato lipidico impedirebbe proprio questo contatto (Jenkins, 1993). Anche quando i batteri sono attaccati alla superficie della particella di alimento, l'azione depressiva del grasso sulle cellulasi si esplica ugualmente. È stato osservato che la presenza di acidi grassi liberi in una miscela di cellulasi ruminali e carbossi-metil-cellulosa indebolisce il legame enzima-substrato riducendo l'attività delle cellulasi. A supporto della seconda teoria l'aggiunta di acidi grassi a culture pure di batteri ruminali comporta l'inibizione della crescita microbica dimostrando l'effetto antimicrobico diretto dei lipidi. Gli effetti antimicrobici dei lipidi nel rumine mostrano diverse similitudini con l'azione citotossica degli acidi grassi sulle funzioni di membrana delle cellule eucariotiche (Borst et al., 1962; Jenkins e Fotouhi, 1990). I LCFA attaccano facilmente il doppio strato lipidico delle membrane biologiche a causa della loro natura idrofobica ed anfipila. Sono state

identificate almeno dieci differenti vie attraverso le quali gli acidi grassi possono alterare la funzionalità delle membrane biologiche (Gutknecht, 1988). Una delle ipotesi si basa sulle interazioni di questi composti con la componente lipidica delle membrane mentre un'altra teoria presuppone la formazione di legami con le proteine di membrana (Gruber e Low, 1988). Questo meccanismo si suppone che possa avvenire anche nelle membrane delle cellule batteriche ruminanti. Un ruolo fondamentale nelle reazioni coinvolte in tali interazioni è svolto dalla funzione carbossilica libera, spiegando così quanto accennato in precedenza sulla minore influenza dei sali e dei derivati acidici sulle fermentazioni ruminanti.

L'ACIDO LINOLEICO CONIUGATO (CLA)

Negli ultimi anni la medicina ha puntato l'attenzione sull'importanza della prevenzione come strategia per combattere le più gravi patologie che colpiscono la nostra società. L'alimentazione, sicuramente, è uno dei mezzi più efficaci in quanto con il cibo vengono introdotte nell'organismo sostanze capaci di fortificare il sistema immunitario o, addirittura, agire direttamente sulla causa della malattia. Il latte, al di là delle sue caratteristiche nutrizionali, contiene alcune sostanze che hanno effetti benefici sulla salute ed è quindi ritenuto indispensabile per una corretta alimentazione. In particolare, in esso sono presenti la vitamina A, la vitamina E, il β carotene, la sfingomielina, l'acido butirrico e l'acido linoleico coniugato che hanno un notevole potenziale antitumorale (Parodi, 1999). La frazione lipidica del grasso del latte, dunque, è caratterizzata dalla presenza di alcuni acidi grassi con particolari proprietà benefiche. Il più caratteristico è sicuramente l'acido linoleico coniugato (CLA, C18:2), che viene sintetizzato in parte durante le biosintesi ruminanti ed in parte dalla ghiandola mammaria. Negli ultimi anni il CLA ha suscitato notevole attenzione nel mondo scientifico perché studi in vitro ed in vivo su animali da laboratorio, hanno evidenziato, oltre all'attività anticarcinogena, anche proprietà antiaterogene, antiobesità, antidiabetiche ed immunostimolanti (McGuire e McGuire, 1999). Poiché i prodotti dei ruminanti, ed in particolare il latte, sono quelli che contengono naturalmente la maggior

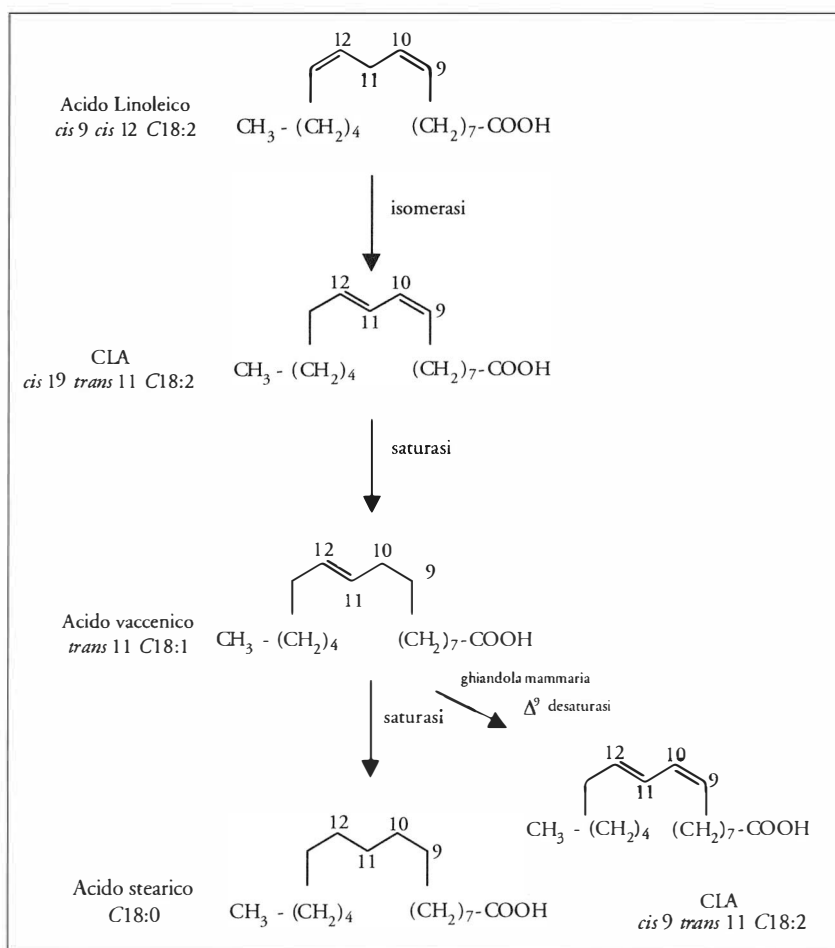


Fig. 4 Sintesi ruminale e tessutale del CLA

quantità di tale sostanza, è stato proposto di incrementarne ulteriormente il contenuto attraverso strategie nutrizionali, in modo da ottenere alimenti sempre più salubri per il consumatore.

BIOSINTESI DEL CLA NEI RUMINANTI

Il CLA che è presente nel latte e nella carne dei ruminanti si forma attraverso due vie metaboliche. La prima è la bioidrogenazione ru-

minale del LA. La seconda, invece, è la desaturazione del VA, di provenienza ruminale, nella ghiandola mammaria (fig. 4).

Come è stato già ampiamente descritto nei paragrafi precedenti, i lipidi che arrivano nel ruminale vengono idrolizzati dai batteri così da liberare gli acidi grassi dai trigliceridi e dai fosfolipidi. Questa reazione è un evento indispensabile affinché possa avvenire la successiva riduzione degli UFA. Per molti anni il solo batterio ritenuto capace di effettuare la bioidrogenazione era il *Butyrivibrio fibrisolvens* (Kepler et al., 1966). Studi abbastanza recenti hanno, però, identificato altri microrganismi in grado di ridurre i doppi legami (Harfoot and Hazlewood, 1988). Gli studi effettuati su colture cellulari pure hanno mostrato che l'intero processo di idrogenazione non viene effettuato da un singolo microrganismo, ma coordinato da un pool di batteri che gestiscono i vari step di reazione. Quindi, i batteri possono essere divisi in due gruppi: il gruppo A che riduce il LA e il LNA a VA ed il gruppo B che conclude la sequenza delle idrogenazioni riducendo il VA a stearico (Harfoot e Hazlewood, 1988). La sintesi ruminale del CLA è riportata in figura 4. Lo step iniziale è l'isomerizzazione del *cis* 9, *cis* 12 C18:2 a *cis* 9, *trans* 11 C18:2, cioè la trasformazione del LA in uno degli isomeri del CLA, che viene chiamato per questo motivo anche acido rumenico RA (Kramer et al., 1998). Questo passaggio viene catalizzato dall'enzima linoleicoisomerasi che non prevede l'aiuto di cofattori e agisce su doppi legami siti a metà della catena carboniosa e lontani da gruppi funzionali attivanti. L'enzima si trova legato alla membrana batterica ed è molto selettivo perché riconosce solo dieni con una stereochimica del tipo *cis* 9, *cis* 12 presenti lungo una catena carboniosa di acidi grassi aventi la funzione carbossilica libera. Il secondo passaggio è una riduzione che converte l'acido rumenico in *trans* 11 C18:1; Gli studi in vitro effettuati incubando LA marcato con liquido ruminale hanno dimostrato che quest'ultima reazione è veloce. La successiva riduzione del VA a C18:0, invece, è molto più lenta consentendone l'accumulo nel ruminale ed il passaggio nel plasma (rate determining step). Il VA formato, una volta assorbito nel plasma ed arrivato alla ghiandola mammaria, può essere riconvertito in RA per azione della $\Delta 9$ desaturasi (fig. 4). È noto che eventuali cambiamenti della popolazione batterica dovuti a variazioni delle condizioni in cui si svolgono le fermentazioni, come per esem-

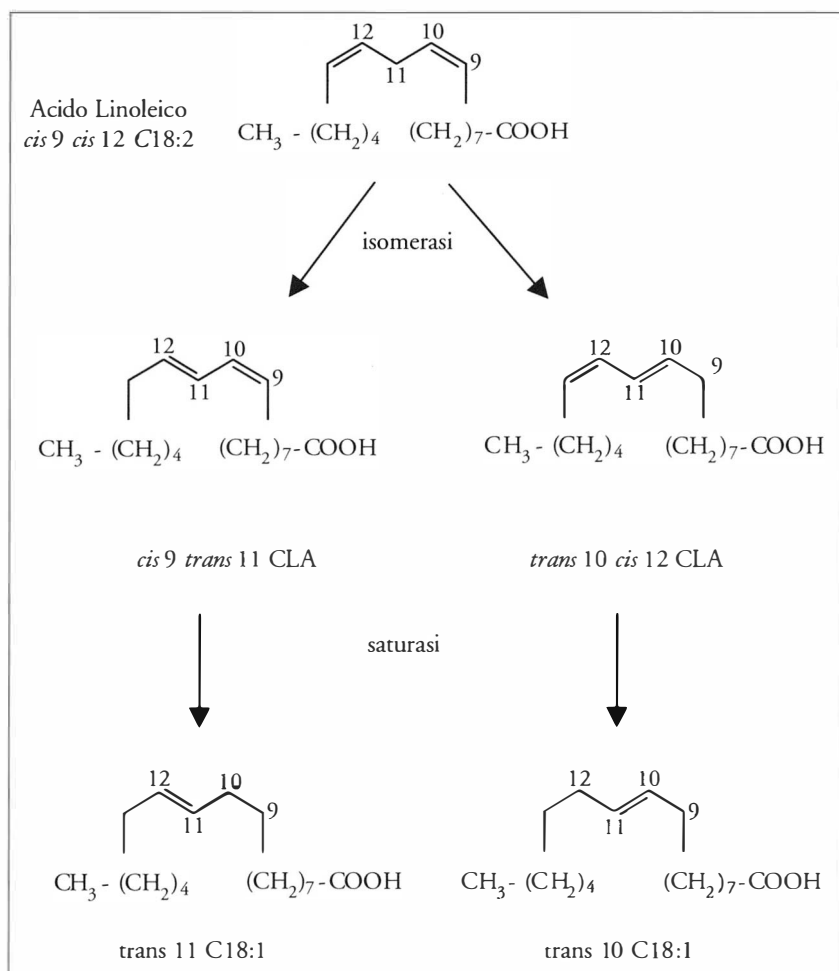


Fig. 5 Modificazione della sintesi ruminale del CLA

pio l'abbassamento del pH, possono modificare la composizione acidica del grasso del latte. Una dieta per bovini da carne caratterizzata da un elevato tasso di concentrato e basso tenore in fibra, nel caso della sintesi del CLA, può deviare la riduzione dell'acido linoleico verso la sintesi di altri isomeri *trans*-decenoici; in questo caso durante il processo fermentativo, si ha la formazione del *trans* 10 C18:1 al posto del VA (Grinari et al., 1998). Il meccanismo proposto coinvolge la *cis* 9 *trans* 10 isomerasi che porterebbe alla forma-

zione del *trans* 10 *cis* 12 CLA come primo intermedio della conversione del LA. Nello step successivo, la riduzione del legame in posizione 12, conduce al *trans* 10 C18:1 (fig. 5) (Grinari, 2001). Il *trans* 10 *cis* 12 CLA sembrerebbe essere di esclusiva sintesi ruminale poiché non è stata dimostrata l'esistenza di una Δ 12 desaturasi in ghiandola mammaria.

In maniera molto simile alla bioidrogenazione del LA, avviene la riduzione del LNA; L'isomero C18:3 predominante negli alimenti è l' α -linolenico (α -LNA; *cis* 9, *cis* 12, *cis* 15 C18:3) e la sua isomerizzazione, seguita dalla riduzione dei doppi legami, conduce al *trans* 11 C18:1. Per il γ -linolenico, meno comune, (γ -LNA; *cis* 6, *cis* 9, *cis* 12, C18:3), la fermentazione è del tutto analoga (Harfoot et al., 1988; Grinari et al. 1999).

LA DIETA COME FATTORE DI VARIAZIONE DEL CONTENUTO DI CLA NEL GRASSO DEI RUMINANTI

Il contenuto di CLA nel grasso del latte dipende dalla produzione ruminale di questo acido e del vaccenico, nonché dalla attività testutale esercitata dalla Δ 9 desaturasi su i precursori di origine ruminale. Quindi, i fattori dietetici rivestono un'importanza prevalente. Gli alimenti per i ruminanti possono essere raggruppati in categorie a seconda della modalità con la quale favoriscono l'incremento di queste sostanze. Il primo gruppo include tutti quei fattori dietetici che contribuiscono alla produzione del CLA e del *trans* 11 C18:1 nel rumine; il secondo, invece, raggruppa quelli che alterano l'ambiente ruminale e quindi interferiscono con la flora batterica; infine, il terzo è costituito dagli alimenti che combinati con altri per formare la dieta, offrono un pool di lipidi tali da modificare la popolazione batterica (Bauman et al., 1999). Gli alimenti particolarmente ricchi in acido linoleico favoriscono la sintesi del CLA perché questo acido grasso, quando è presente in quantità elevate nell'ambiente ruminale, inibisce la riduzione del vaccenico che in ghiandola mammaria viene nuovamente desaturato. Prove in vivo hanno dimostrato che la risposta è dose dipendente. Esperimenti in vitro, invece, sono serviti per chiarire il meccanismo di reazione e sembrerebbe che il LA agisca sui batteri del "gruppo B", come ini-

bitore di competizione nella bioidrogenazione del monoene. L'integrazione alle diete con piante oleaginose come il girasole, la soia, il mais, il colza ed il lino, non usate normalmente nelle razioni perché producono effetti negativi sul metabolismo microbico ruminale, favorirebbero l'aumento di CLA nel grasso del latte; tuttavia la granella e l'insilato di mais, ottenuti da varietà ad alto contenuto in olio, hanno un effetto poco significativo (Harfoot et al., 1973). Alimentando vacche da latte con razioni contenenti olio di lino (4.4% della sostanza secca) od olio di soia (4% della sostanza secca) si osserva un aumento del CLA rispetto al controllo di 12.4 mg/g e 15.8 mg/g di grasso rispettivamente. Una supplementazione con 300 g/d di olio di girasole, invece, contribuisce ad un innalzamento dello 0.3% di questo acido; effetti maggiori si hanno quando unitamente a questo supplemento viene aggiunto del tampone carbonato oppure è protetto sotto forma di sali di calcio (Jahreis et al., 1999b). Un sostanziale incremento si verifica, invece, quando vengono utilizzati semi trattati con processi di estrusione, micronizzati o tostati (Secchiari et al., 2001a; Chouinard et al., 1997; Chouinard et al., 2001). I semi integri non modificano la concentrazione del CLA perché gli acidi grassi contenuti all'interno non sono accessibili ai batteri che quindi non possono attuare alcuna trasformazione. Prove di alimentazione condotte su vacche alimentate con semi estrusi di soia o cotone (12% della sostanza secca della razione) mostrano un aumento del CLA dal 3.4% del gruppo controllo al 6.9% e 6.0% rispettivamente per il gruppo soia e cotone (Dhiman et al., 1998). L'impiego dell'olio di pesce, ricco in PUFA, nelle razioni destinate alle bovine aumenta la concentrazione di CLA nel latte a causa del suo effetto inibitore sulle bioidrogenazioni ruminali del tutto analogo a quello esercitato dal LA con conseguente accumulo di VA. Quindi è da presupporre che, nel caso dell'utilizzo di questo integratore lipidico, il CLA sintetizzato è per la maggior parte proveniente dalla desaturazione dell'acido *trans* 11 ottadecenoico nel tessuto mammario (Chilliard et al., 1999). Variazioni sul contenuto di VA possono essere anche correlate alla diminuzione del pH ruminale (e quindi ad una modificazione della popolazione batterica) che si verifica quando la dieta è caratterizzata da un elevato tenore di concentrato e un basso tasso di fibra; infatti, se a razioni di questa tipologia viene addizionato del tampo-

ne che mantenga il pH a valori normali, la sintesi dei *trans* C18:1 diminuisce (Griinari et al., 1998). In realtà non è facile riuscire a distinguere l'effetto dell'abbassamento del pH da quello offerto dalla variazione qualitativa del substrato lipidico. In letteratura ci sono, infatti, esempi contraddittori in cui diete sbilanciate verso un maggior contenuto di concentrato hanno indotto sia un aumento sia una diminuzione di *trans* 11 C18:1 (Griinari et al., 1998, Chouinard et al., 1998). Confrontando diete con uguale composizione lipidica è stato dimostrato che l'abbassamento del pH ruminale non induce alcuna variazione quantitativa degli acidi *trans*-ottadecenoici ma all'interno di questo gruppo di isomeri, si ha un'importante variazione che consiste nella diminuzione della sintesi del vaccenico a favore del *trans* 10 C18:1 che diventa l'acido predominante (Griinari et al., 1998, 1999, 2001). Il contenuto di CLA aumenta notevolmente, quando le vacche sono alimentate al pascolo come è stato dimostrato dai risultati del confronto fra diete contenenti foraggio fresco o fieno con la stessa quantità di grasso. I lipidi contenuti nel foraggio fresco consistono soprattutto in glicolipidi e fosfolipidi che sono circa il 2% della sostanza secca. Alcuni studi in vitro hanno mostrato che i glicolipidi vengono idrolizzati e ridotti dai batteri ruminali in maniera analoga ai trigliceridi (Bauman et al., 1999; Kelly et al., 1998). Anche lo stadio di maturazione del foraggio sembrerebbe influenzare la concentrazione di CLA; con foraggi tagliati precocemente la quantità di questo acido grasso nel latte aumenta rispetto a quando l'alimentazione della bovina prevede un foraggio più maturo o di tagli successivi (Chouinard, 1998b). Inoltre, il tasso CLA è più elevato in primavera ed in autunno e più basso durante le rimanenti stagioni. Comunque, la composizione quali-quantitativa della frazione lipidica nel foraggio fresco non sembra spiegare completamente l'influenza esercitata sulla concentrazione di linoleico coniugato. Probabilmente esistono degli effetti sinergici fra il substrato lipidico ed altre componenti presenti nell'alimento in esame che possono interagire con le fermentazioni ruminali. La supplementazione con olio di pesce comporta un aumento della quota dei *trans* C18:1, specialmente del *trans* 11 con conseguente incremento del RA e del *trans* 10 che indurrebbe, secondo alcuni autori, una riduzione della sintesi del grasso del latte (Chilliard et al., 2001; Bauman et al., 2001). Un al-

tro fattore che può indurre delle variazioni è costituito dagli ionofori che inibiscono la crescita dei batteri gram-positivi coinvolti nelle bioidrogenazioni come il *Butirvibrio fibrisolvens*. L'aggiunta di questi composti alla dieta di bovine da latte sembrerebbe inibire la riduzione del LA favorendo l'accumulo di VA. Su questo argomento, però, i dati riportati in letteratura sono abbastanza contraddittori. L'ipotesi più probabile è che tale comportamento sia correlabile alla capacità che i batteri ionofori-resistenti hanno nel sostituire quelli sensibili (Bauman et al., 1999).

Studi effettuati su vacche in lattazione hanno mostrato che la percentuale di CLA nel latte è proporzionale alla sua integrazione nella razione. Diete contenenti integratori di CLA, costituito principalmente dagli isomeri *cis*, *trans* 8/10, 9/11, 10/12 e 11/13, hanno evidenziato una notevole efficienza di trasferimento nel latte dell'intero pool di questi acidi grassi (Chouinard et al., 1999a; Chouinard et al., 1999b). Come nel caso dei PUFA anche per il trasferimento del CLA nel latte, la barriera più grande da superare è il rumine; mediante infusioni abomasali con integratori di CLA al 60% è stato ottenuto il trasferimento di circa il 50% di questo acido nel latte (Chin et al., 1992). Un'ottima resa nel trasferimento di questo acido grasso nel latte è stata ottenuta mediante l'incapsulamento in una matrice proteica che, com'è ben noto, protegge gli acidi polinsaturi dalle eventuali riduzioni (Gulati et al., 2000).

EVOLUZIONE DEL CONTENUTO DEI PRINCIPALI ISOMERI DEL C18:1 E DEL CLA NEL LIQUIDO RUMINALE DURANTE I PROCESSI FERMENTATIVI IN VITRO

Griinari e Bauman (1996) hanno affermato che i fattori responsabili della variabilità degli isomeri del CLA nel latte non sono ancora del tutto noti, ma sicuramente l'alimentazione riveste un ruolo essenziale perché l'alimento, che passa attraverso il rumine, viene rielaborato dai microrganismi. D'altra parte abbiamo già ampiamente discusso su come il rumine sia un ecosistema particolare, molto difficile da riprodurre in vitro perché le condizioni ambientali che lo caratterizzano sono estremamente sensibili all'azione di un gran numero di fattori di variazione. Per questo motivo, lo stu-

ALIMENTO	DIETE		
	A	B	C
Fieno di erba medica	6	6	7.8
Insilato di mais	6.6	6.0	5.5
Mangime concentrato	-	-	10.3
Soia integrale	-	3	-
Farina di mais	5.8	5.8	-
Farina di estrazione di soia	2.8	-	-
Paglia	-	-	0.9
Sali di calcio dell'olio di oliva	0.2	-	-

N.B. Il mangime concentrato utilizzato per la formulazione della dieta C era un mangime complementare per vacche da latte preparato secondo "il regolamento Grana Padano 1990"; componenti: f.di granoturco, f. di orzo e di soia tostata, f. glutinata di granoturco, f. semi di soia integrale, farinaccio di frumento tenero e duro, f. e. di girasole parzialmente decorticato, cruschetto di frumento tenero e duro, carrube macinate f. e. di semi di cotone parzialmente decorticati, melasso di canna da zucchero, fosfato bicalcico biidrato, carbonato di calcio, bicarbonato di sodio, cloruro di sodio, ossido di magnesio, DL-metionina.

Tab. 1 *Composizione delle razioni testate al fermentatore ed utilizzate per l'alimentazione delle bovine da latte (kg di SS)*

dio delle fermentazioni ruminali spesso si basa sull'impiego di animali fistolati. Anche questo tipo di approccio, tuttavia, presenta numerosi limiti di natura tecnica ed economica e, pertanto, la realizzazione di un sistema in vitro che riproduca ciò che avviene nell'apparato ruminale, senza discostarsi troppo dalla realtà fenomenologica, può dare un notevole contributo allo studio delle fermentazioni degli alimenti e dei prodotti che ne conseguono. Le ricerche svolte dal nostro gruppo di lavoro hanno consentito di mettere a punto un approccio metodologico che consenta di valutare allo stesso tempo l'andamento delle fermentazioni ruminali e le trasformazioni degli acidi grassi contenuti negli alimenti ad opera dei batteri ruminali. Obiettivo particolare del lavoro è stato lo studio delle bioidrogenazioni degli acidi insaturi appartenenti alla famiglia dei C18, con particolare riferimento alla sintesi e alla riduzione degli isomeri geometrici e posizionali del C18:1 e dell'acido linoleico coniugato. I risultati ottenuti dalle fermentazioni di diete, la cui tipologia rappresenta un'alimentazione abbastanza comune nell'allevamento di vacche da latte, hanno evidenziato che il processo fermentativo è sicuramente influenzato dall'aggiunta di grassi insaturi, anche in quantità non elevate (tabb. 1, 2, 3, 4). L'integrazione, infatti, con saponi di calcio di acidi grassi dell'olio di oliva oppure

	DIETE		
	A	B	C
Proteina	16.13	16.07	16.73
Estratto etereo	3.82	5.24	2.95
Ceneri	5.02	4.72	7.66
NDF	36.20	35.62	40.96
ADF	15.94	15.71	18.90
ADL	2.93	2.94	3.42
PDIE (g / kg _{ss})	112	112	121
PDIN (g / kg _{ss})	112	110	120
EM (kcal / kg _{ss})	2687	2716	2408
UFL (kcal / kg _{ss})	0.98	0.99	0.85
q	0.61	0.61	0.56

Tab. 2 *Composizione chimica e valore nutritivo delle diete (g/100g di SS)*

	DIETE		
	A	B	C
<i>Carboidrati</i>			
A	17.93	17.08	16.83
B1	33.83	34.15	26.80
B2	38.87	39.19	45.06
C	9.34	9.58	11.29
<i>Proteine</i>			
A	18.98	15.55	23.53
B1	12.27	4.92	3.64
B2	57.96	67.83	64.31
B3	4.27	4.48	2.09
C	6.51	7.22	6.57

Tab. 3 *Composizione chimica delle diete secondo il sistema Cornell (g/100g di SS)*

con semi integrali di soia estrusa ha comportato lo spostamento della composizione acidica del liquido ruminale verso le frazioni insature. La stessa tendenza si osserva per la composizione acidica del grasso del latte prodotto da bovine alimentate con le stesse diete testate in vitro. Dall'analisi della composizione acidica del liquido ruminale incubato (riportata in tabb. 5 e 6) emergono interessanti peculiarità sulle sintesi e sulle modificazioni degli acidi grassi contenuti negli alimenti da parte dei microrganismi. La somministrazione dei saponi di calcio dell'olio di oliva e della soia integrale ha condotto ad un aumento della frazione monoinsatura in entrambe le tesi, ma solo l'integrazione con la soia ha portato ad un incremen-

ACIDI GRASSI	SOIA	SAPONI DI CALCIO OLIO DI OLIVA
C ₈	0	1.130
C ₁₀	0	0.607
C ₁₂	0	7.307
C ₁₄	0.324	3.669
C ₁₆	15.011	21.358
C _{16:1}	0.145	0.449
C _{18:0}	4.135	4.080
C _{18:1} t9	0	0
C _{18:1} c9	21.993	38.742
C _{18:1} c11	1.609	1.541
C _{18:2} c9, c12	48.897	19.598
C _{18:3} n-3	6.681	0.727
C ₂₀	0.696	0.427
C _{20:1} n-9	0.506	0.358

Tab. 4 *Composizione acidica delle fonti grassate (g/100g di estratto lipidico)*

	DIETA A	DIETA B	DIETA C	ES	A+B VS C	A VS B
SCFA	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.		
MCFA	25.872	20.719	20.969	1.071	**	
LCFA	21.891	39.989	25.063	1.586	**	**
SFA	29.889	29.889	29.018	1.612		
MUFA	17.444	16.104	8.437	0.858	**	
PUFA	9.044	18.164	8.049	0.844	**	**
SCFA: acidi grassi a corta catena MCFA: acidi grassi a media catena LCFA: acidi grassi a lunga catena SFA: acidi grassi saturi MUFA: acidi grassi monoinsaturi; acidi grassi polinsaturi. * = P ≤ 0.05 ** = P ≤ 0.01						

Tab. 5 *Variazioni delle principali classi di acidi grassi in relazione alle diete nel liquido ruminale (g/100 g estratto lipidico)*

to dei PUFA. Questo andamento può essere spiegato dal maggior contenuto in acido oleico (*cis* 9 C18:1) e linoleico presenti nel liquido ruminale incubato con le diete grassate in più alte quantità rispetto alla C (P<0.001). Infatti, mentre la soia è ricca in acido linoleico, suscettibile a riduzione parziale in ambiente ruminale e conseguente formazione di intermedi monoinsaturi, i saponi di calcio dell'olio di oliva sono naturalmente ricchi in oleico. È interessante notare che, analogamente a quanto trovato nel latte (tab. 7), malgrado la dieta A contenga circa il doppio di acido oleico rispet-

ACIDO GRASSO	DIETE				
	A	B	C	A VS B	A+B VS C
C ₁₀	0.752±0.113	0.759±0.098	0.759±0.134		
C ₁₂	5.423±0.508	3.208±0.479	3.273±0.586	*	
C ₁₄	3.302±0.164	1.97±0.154	2.090±0.189	**	*
C ₁₅	0.425±0.056	0.621±0.0532	0.600±0.0652		
C ₁₆	15.613±0.570	13.901±0.537	14.247±0.658		
C _{16:1}	0.357±0.034	0.260±0.032	0.307±0.040		
C _{17:0}	0.154±0.019	0.224±0.018	0.231±0.022		
C _{18:0}	4.972±0.366	7.506±0.462	8.577±0.388	**	**
C _{18:1} t6-8	0.078±0.039	0.053±0.037	0.015±0.045		
C _{18:1} t11	4.503±0.333	5.435±0.314	3.597±0.430		**
C _{18:1} t12	0.016±0.014	0.034±0.013	0		
Total C _{18:1} <i>trans</i>	4.597±0.31	5.522±0.31	3.612±0.31	*	**
C _{18:1} c9	11.966±0.495	9.867±0.495	4.641±0.525		**
C _{18:1} c11	0.524±0.042	0.455±0.039	0.184±0.048		**
Total C _{18:1} <i>cis</i>	12.490±0.120	10.322±0.120	4.825±0.120		**
Total C _{18:1}	17.080±0.888	15.844±0.837	8.437±1.025		**
C _{18:2} c9, c12	7.961±0.603	15.877±0.692	6.773±0.639	**	**
CLA c12, t14	0.001±0.0007	0.001±0.0007	0.001±0.007		
CLA c11, t13	0.011±0.002	0.008±0.002	0.008±0.003		
CLA c10, t12	0.088±0.033	0.139±0.029	0.079±0.031		
CLA c9, t11	0.351±0.131	0.490±0.105	0.210±0.136		
CLA c8, t10	0.001±0.000	0.001±0.000	0		
CLA c7, t9	0.007±0.003	0.002±0.003	0.001±0.004		
CLA t12, t14	0.002±0.001	0.003±0.001	0.002±0.001		
CLA t11, t13	0.013±0.008	0.008±0.007	0.006±0.009		
CLA t10, t12	0.017±0.003	0.022±0.003	0.009±0.004		
CLA t9, t11	0.080±0.014	0.082±0.013	0.059±0.016		
CLAt8, t10	0.007±0.001	0.002±0.001	0.002±0.001		
CLA t7, t9	0.002±0.000	0.002±0.000	0		
Total CLA	0.580±0.125	0.760±0.110	0.377±0.140		
C _{18:3} n-3	0.503±0.050	1.527±0.050	0.899±0.060	**	
* =P ≤ 0.05 ** = P ≤ 0.01					

Tab. 6 *Composizione acidica del liquido ruminale in funzione delle differenti diete incubate (g/100g estratto lipidico)*

to alla soia, la quantità di *cis* 9 C18:1 che si ritrova nel liquido ruminale fermentato con le due grassature in esame è simile. Inoltre, la concentrazione di C18:0 è significativamente più bassa per la fermentazione della dieta A. Ciò confermerebbe, pertanto, che il processo di bioidrogenazione ruminale comporta una parziale isomerizzazione dell'acido oleico ad altri isomeri del C18:1, come evidenziato dall'aumento totale di questo gruppo di acidi (Selner e Schultz, 1980) e non alla sua riduzione a stearico. Dal momento

	DIETA A	DIETA B	DIETA C	ES	A+B VS C	A VS B
C ₄	3.220	3.811	3.867	0.222		
C ₆	2.230	2.470	1.457	0.175	*	
C ₈	1.605	1.574	1.531	0.206		
C ₁₀	3.965	3.362	4.309	0.360		
C ₁₂	5.093	4.283	4.274	0.352		
C ₁₄	13.585	12.073	14.603	0.509	*	*
C _{14:1}	1.340	1.114	0.939	0.151		
C ₁₅	1.666	1.216	1.980	0.107	**	**
C ₁₆	29.238	23.234	31.888	1.057	**	**
C _{16:1}	1.545	1.060	1.543	0.156		
C _{18:0}	6.162	8.017	7.578	0.486		*
C _{18:1} t6-8	0.243	0.331	0.151	0.035	**	
C _{18:1} t9	0.290	0.351	0.438	0.050		
C _{18:1} t11	1.307	1.750	1.093	0.129	*	*
C _{18:1} t12	0.333	0.523	0.141	0.037	**	**
Total C _{18:1} trans	2.173	2.956	1.823	0.231	*	*
C _{18:1} c7	0.750	1.081	0.453	0.074	**	**
C _{18:1} c9	15.630	16.291	15.111	0.695		
C _{18:1} c11	0.663	0.555	0.303	0.094	*	
C _{18:1} c12	0.320	0.569	0.195	0.048	**	**
Total C _{18:1} cis	17.364	18.496	16.063	0.576	*	
C _{18:2} t9, t12	0.010	0.036	0	0.001	*	*
C _{18:2} c9, c12	1.743	2.734	1.584	0.095	**	**
CLA c12, t14	0.004	0.005	0.003	0.001		
CLA c7, t9	0.110	0.113	0.049	0.007	**	
CLA c9, t11	0.454	0.504	0.448	0.042		
CLA c10, t12	0.001	0.002	0	0.001		
CLA t7,t9+t8,t10	0.011	0.009	0.015	0.001		
CLA t9, t11	0.014	0.013	0.013	0.001		
CLA t10, t12	0.017	0.018	0.007	0.001	**	
CLA t11, t13	0.004	0.008	0.012	0.001	**	**
Total CLA	0.617	0.675	0.560	0.046	P = 0.1	
C _{18:3} n-3	0.264	0.401	0.298	0.098		*

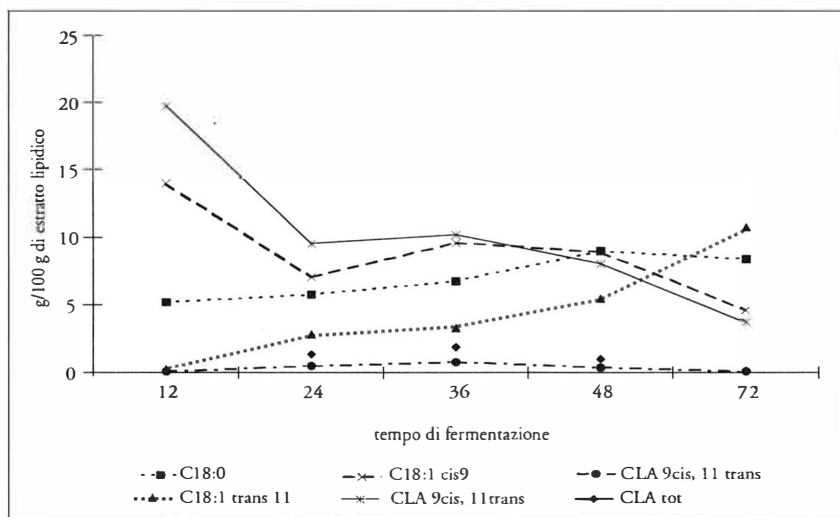
* = p ≤ 0.05
 ** = p ≤ 0.01.
 N.B.: gli isomeri cis, trans dei CLA sono da considerarsi come somma delle forme cis, trans e trans, cis.
 A = saponi di calcio di olio di oliva
 B = soia integrale
 C = controllo

Tab. 7 *Composizione acidica del grasso del latte (g/100g estratto lipidico)*

che la ghiandola mammaria preleva dal sangue la frazione acidica a lunga catena, quanto ritrovato nel latte può essere considerato una diretta conseguenza delle isomerizzazioni ruminali. Per i C18:1 *trans* vi sono differenze fra le tre tesi imputabili a valori più elevati di acido vaccenico per la fermentazione delle diete grassate rispetto

ACIDO GRASSO	ORE DI INCUBAZIONE				
	12	24	36	48	72
C ₁₀	0.172±0.137	1.300±0.137	0.675±0.180	0.903±0.137	1.371±0.150
C ₁₂	2.089±0.667	14.923±0.667	0.922±0.667	0.926±0.667	0.981±0.724
C ₁₄	1.560±0.215	6.825±0.215	1.417±0.215	1.115±0.215	1.349±0.233
C ₁₅	0.382±0.074	0.356±0.074	0.602±0.074	0.726±0.074	0.676±0.080
C ₁₆	13.858±.749	13.888±.749	14.464±.749	14.034±.749	16.691±0.813
C _{16:1}	0.198±0.045	0.207±0.045	0.422±0.045	0.400±0.045	0.314±0.045
C _{17:0}	0.124±0.025	0.125±0.025	0.274±0.025	0.211±0.025	0.282±0.027
C _{18:0}	5.186±0.442	5.752±0.487	6.732±0.442	9.004±0.524	8.416±0.616
C _{18:1} t6-8	0	0.045±0.052	0.002±0.052	0.109±0.052	0.057±0.056
C _{18:1} t11	0.237±0.438	2.841±0.438	3.301±0.438	5.458±0.543	10.721±0.476
C _{18:1} t12	0.043±0.017	0.033±0.017	0	0.002±0.023	0.006±0.021
Total C _{18:1} trans	0.280±0.01	2.919±0.01	3.303±0.01	5.569±0.01	10.784±0.01
C _{18:1} c9	13.979±0.598	7.014±0.653	9.588±0.598	8.949±0.703	4.593±0.653
C _{18:1} c11	0.454±0.055	0.285±0.055	0.491±0.055	0.328±0.055	0.380±0.060
Total C _{18:1} cis	14.433	7.299	10.079	9.277	4.973
C _{18:2} c9, c12	19.728±0.728	9.507±0.806	10.124±0.796	8.019±0.867	3.641±0.867
CLA c12, t14	0	0.002±0.001	0	0.002±0.001	0.002±0.001
CLA c11, t13	0.005±0.003	0.007±0.003	0.007±0.003	0.018±0.003	0.008±0.004
CLA c10, t12	0.006±0.039	0.104±0.003	0.252±0.042	0.129±0.042	0.018±0.049
CLA c9, t11	0.088±0.139	0.475±0.139	0.766±0.192	0.368±0.186	0.055±0.152
CLA c8, t10	0	0	0	0.001±0.0003	0.001±0.004
CLA c7, t9	0	0	0.012±0.004	0	0
CLA t12, t14	0	0.003±0.001	0.002±0.001	0.004±0.001	0
CLA t11, t13	0	0.017±0.010	0.0115±0.010	0.041±0.010	0
CLA t10, t12	0	0.029±0.005	0.012±0.005	0.029±0.005	0
CLA t9, t11	0	0.217±0.0184	0.06±0.0184	0.05±0.0184	0
CLA t8, t10	0	0.010±0.001	0.002±0.001	0.005±0.001	0
CLA t7, t9	0	0	0.001±0.0006	0.004±0.0006	0.001±0.0006
Total CLA	0.187±0.06	1.339±0.06	1.8915±0.06	1.019±0.06	0.14±0.06
C _{18:3} n-3	2.172±0.063	0.488±0.078	1.171±0.063	0.733±0.073	0.319±0.069

Tab. 8 *Variazione della composizione acidica del liquido ruminale in funzione del tempo di fermentazione (g/100g estratto lipidico)*



Graf. 1 *Variazione della concentrazione del CLA, dei suoi precursori e prodotti di riduzione nel liquido ruminale durante il tempo di fermentazione*

alla C, entro le quali la dieta B mostra un maggior contenuto di isomeri *trans* rispetto alla A. Per i C18:1 *cis* è ugualmente rilevabile una differenza statisticamente significativa ($P < 0.01$) per le fermentazioni delle diete grassate, ma entro queste si può notare una tendenza ad un maggior contenuto in questi acidi per la A. La formazione di apprezzabili quantità di isomeri *trans* del C18:1 anche nella dieta contenente sali di calcio dell'olio d'oliva, ha confermato quanto già osservato da altri autori in merito alla scarsa efficacia di questa forma di protezione degli acidi grassi contro i processi di bioidrogenazione ruminale. Poiché, come è noto, i processi riduttivi avvengono solo a carico di acidi grassi con la funzione carbossilica libera, è lecito supporre che i sali si siano disciolti nel liquido ruminale in quantità non piccola, come dimostrato dal fatto che il contenuto di acido oleico non varia rispetto alle altre diete e che aumentano gli isomeri *trans* del C18:1.

Nel complesso, i CLA hanno evidenziato, sia nel latte che nel liquido ruminale, una tendenza all'aumento nel caso di aggiunta di grassi alla dieta, ma ancora più interessante è risultato l'andamento temporale che caratterizza la loro presenza nel liquido ruminale. In generale si è assistito ad un aumento della concentrazione dei sin-

goli isomeri (ne sono stati identificati 13 in totale) che, se pur sfalsato di 12 ore fra le tre diete, è risultato, in ogni caso, concomitante alla riduzione dell'acido linoleico e alla fase di stasi della formazione di isomeri *trans* del C18:1. Successivamente, all'aumento della concentrazione di quest'ultimi è corrisposto un crollo del contenuto dei diversi isomeri CLA, a riprova dell'esistenza di stretti legami metabolici fra i due gruppi di acidi. Tra i diversi isomeri CLA identificati, inoltre, si è potuto osservare la tendenza del *trans* 10, *cis* 12 ad esaurirsi prima rispetto all'altro isomero preminente, il *cis* 9, *trans* 11. (tab. 8; graf. 1).

ABSTRACT

The fate of dietary fatty acids in the rumen is to be hydrolysed from triglycerides or phospholipids and to be reduced if unsaturated. These complex reactions are made possible by rumen microflora and microfauna. The two processes that affect the rumen fatty acids transformation are lipolysis and biohydrogenation. The microbes are, also, able to synthesise ex novo fatty acids. Their chain length is determined by the precursors transformed by bacteria.

The current information about the amount of Conjugated Linoleic Acid (CLA) synthesised in the rumen are few but it is known that such amount is affected by the diet. The aim of this work is to review the metabolic pathways of rumen microbes to explain the fatty acids transformation during the fermentation of feeds. Our experiments allowed us to study the development of geometrical and positional isomers content of CLA and C18:1 fatty acids in rumen fluid during in vitro fermentation of common feeds with the aim to quantify the yield of CLA and its precursors.

BIBLIOGRAFIA

- BARLETT J.C. and CHAPMAN D.G. (1961): *Detection of hydrogenated fats in butter fat by measurement of cis-trans conjugated insaturation* «Agric. Food. Chem.», 9, p. 50.
- BAUCHART D., LEGAY F., DOREAU M., GAILLARD B. (1990): *Lipid metabolism of liquid-associated and solid-adherent bacteria in rumen contents of dairy cows offered lipid-supplemented diets*, «British J. Nutrition», 63, p. 563.
- BAUMAN D.E., BAUMGARD L.H., CORL B.A., GRIINARI J.M. (1999): *Biosynthesis of conjugated linoleic acid in ruminants*, Proc. Am. Soc. Anim. Sci., disponibile in: <http://www.asas.org/jas/symposia/proceedings/0937.pdf>.
- BAUMAN D.E. and GRIINARI J.M. (2001): *Regulation and nutritional manipulation*

- of milk fat: low-fat milk syndrome, «Livestock Production Science», 70, p. 15.
- BOGGS D.L., BERGEN W.G., HAWKINS D.R. (1987): *Effects of tallow supplementation and protein withdrawal on ruminal fermentation, microbial synthesis and site of digestion*, «J. Anim. Sci», 64 p. 970.
- BORST P., LOOS J.A., CHRIST E.J., SLATER E.C. (1962): *Uncoupling activity of long chain fatty acids*, «Biochim. Biophys. Acta», 62, p. 509.
- CHALUPA W., RICKABAUGH B., KRONFELD D.S., SKLAN D. (1984): *Rumen fermentation in vitro as influenced by long chain fatty acids*, «J. Dairy. Sci.», 67, p. 1439.
- CHILLIARD Y., CHARDIGNY J.M., CHABROT J., OLLIER A., SEBEDIO J.L. AND DOREAU M. (1999): *Effects of ruminal or postruminal fishoil supply on CLA content of cow milk fat*, Proc.Nutr. Soc., 58, p. 70A (abstr.).
- CHILLIARD Y., FERLAY A., DOREAU M. (2001): *Effect of different types of forages, animal fat or marine oils in cow's diet on milk fat secretion and composition, especially conjugated linoleic acid (CLA) and polyunsaturated fatty acids*, «Livestock Production Science», 70, p. 31.
- CHIN S.F., LIU W., STORKSON J.M., HA Y.L., PARIZA M.W. (1992): *Dietary sources of conjugated dienoic isomers of linoleic acid, a newly recognized class of anti-carcinogens*, «J. Food Composition and Analysis», 5, p. 185.
- CHOUINARD P.Y., CORNEAU L., BUTLER W.R., CHILLIARD Y., DRACKLEY J.K., BAUMAN D.E. (2001): *Effect of dietary lipid source on conjugated linoleic acid concentration in milk fat*, «J. Dairy Sci.», 84, p. 680.
- CHOUINARD P.Y., GIRARD V., BRISSON G.J. (1998): *Fatty acid profile and physical properties of milk fat from cows fed calcium salts of fatty acids with varying unsaturation*, «J. Dairy Sci.», 81, p. 471.
- CHOUINARD P.Y., GIRARD V., BRISSON G.J. (1997): *Performance and profiles of milk fatty acids of cows fed full fat, heat-treated soy bean using various processing methods*, «J. Dairy Sci.», 80, p. 334.
- CHOUINARD P.Y., CORNEAU L., BARBANO D.M., METZGER L.E. AND BAUMAN D.E. (1999a): *Conjugated linoleic acid alter milk fatty acids composition and inhibit milk fat secretion in dairy cows*, «J. Nutr.», 124, p. 2344.
- CHOUINARD P.Y., CORNEAU L., SAEBO, AND BAUMAN D.E. (1999b): *Milk yield and composition during abomasal infusion of conjugated linoleic acid in dairy cows*, «J. Dairy Sci.», 81 (Suppl.1), p. 233.(Abstr.)
- CHOUINARD P.Y., CORNEAU L., KELLY M., GRIINARI J.M., BAUMAN D.E. (1998b): *Effect of dietary manipulation on milk conjugated linoleic acid concentrations*, «J. Dairy Sci.», 81 (Suppl.1), p. 233.(Abstr.).
- CORL B.A., CHOUINARD P.Y., BAUMAN D.E., DWYER D.A., GRIINARI J.M., NURMELA K.V. (1998): *Conjugated linoleic acid in milk fat of dairy cows originate in part by endogenous synthesis from trans-11 octadecenoic acid*, «J. Dairy Sci.», 82, p. 2737.
- CORL B.A., LACY S.H., BAUMGARD L.H., DWYER D.A., GRIINARI J.M., PHILLIPS B.S., BAUMAN D.E. (1999): *Examination of the importance of D9-desaturase and endogenous synthesis of CLA in lactating dairy cows*, «J. Anim. Sci.», 77 (Suppl 1), p. 118 (abstr).
- DEWENDRA C. and LEWIS D. (1974): *The interaction between dietary lipids and fibre in the sheep*, «Anim. Prod.», 19, p. 67.

- DHIMAN T.R., HELMINK E.D., MCMAHON D.J., FIFE R.L. AND PARIZA M.W. (1998): *Effect of dietary manipulation on milk Conjugated Linoleic Acid concentration*, «J.Anim.Sci.», 76 (suppl. 1), p. 233 (abstr. 907).
- ENOCH H.G., CATALA A., STITTMATTER P. (1976): *Mechanism of rat liver microsomal stearyl-CoA desaturase*, «J.Biol. Chem.», 251, p. 5095.
- FAY J.P., JAKOBER K.D., CHENG K.J., COSTERTON J.W. (1990): *Esterase activity of pure cultures of rumen bacteria as expressed by the hydrolysis of p-nitrophenylpalmitate*, «Can. J. Microb.», 36, p. 585.
- FOTOUHI N. and JENKINS T.C. (1992): *Ruminal biohydrogenation of linoleoyl methionine and calcium linoleate in sheep*, «J. Anim Sci.», 70, p. 3607.
- GERSON T. and KING A.S.D. (1985): *The effect of dietary starch and fibre on the vitro rates of lipolysis and hydrogenation by sheep rumen digesta*, «J. Agric. Sci. Camb.», 105, p. 27.
- GRIINARI J.M. and BAUMAN D.E. (1999): *Biosynthesis of conjugated linoleic acid and its incorporation into meat and milk in ruminants*, in M.P. YURAWECZ, M.M. MOS-SOBA, J.K. G.KRAMER, M.W. PARIZA, G.J. NELSON (Ed.) *Advances in Conjugated Linoleic Acid Research*, AOCS Press, Champaign, IL, vol 1, pp. 180-200.
- GRIINARI J.M., DWYER D.A., MCGUIRE M.A., BAUMAN, D.E., PALMQUIST D.L. AND NURMELA K.V.V. (1998): *Trans-ottadecenoic acids and milk fat depression in lactating dairy cows*, «J. Dairy Sci.», 81, p. 1251.
- GRIINARI M.J. (2001): *Development of animal feeding strategies for the production of high CLA milk fat*, in Proceeng of 1st International Conference on Conjugated Linoleic Acid, June 10-13, Alesund-Norway, p. 25.
- GRUBER H.J. and LOW P.S. (1988): *Interaction of amphiphiles with integral membrane proteins. I. Structural destabilization of the anion transport protein of the erythrocyte membrane by fatty acids, fatty alcohols, and fatty amines*, «Biochim. Biophys. Acta», 944, p. 414.
- GULATI S.K., KITESSA S.M., SSHES J.R., FLECK E., BYERS E.B., BYERS Y.G., SCOTT T.W. (2000): *Protection of conjugated linoleic acid from ruminal hydrogenation and their incorporation into milk fat*, «Animal Feed Sci. Tech.», 86, p. 139.
- GUTKNECHT J. (1988): *Proton conduttance caused by long chain fatty acids in phospholipid bilayer membranes*, «J. Membr. Biol.», 106, p. 83.
- HARFOOT C.G. (1978): *Lipid metabolism in the rumen*, «Prog. Lipid Res.», 17, p. 21.
- HARFOOT C.G. and HAZLEWOOD G.P. (1988): *Lipid metabolism in the rumen*, in P.N. HOBSON (Ed.), *The rumen microbial ecosystem*, Elsevier Applied Science Publishers, London, pp. 285-322.
- HARFOOT C.G., NOBLE R.C., MOORE J.H. (1973): *Factors influencing the extent of biohydrogenation of linoleic acid by rumen microorganism in vitro*, «J.Food Agric.», 24, p. 961.
- IKWUEGBU O.A. and SUTTON J.D. (1982): *The effect of varing the ammount of linseed oil supplementation on rumen metabolism in sheep*, «Brit. J. Nutr.», 48, p. 365.
- JAHREIS G., FRITSCHÉ J., MÖCKEL P., SCHÖNE F., MÖLLER U., STEINHART H. (1999a): *The potential anticarcinogenic conjugated linoleic acid, cis-9, trans-11 C:2, in milk of different species: cow, goat, ewe, mare, woman*, «Nutrition Research», vol. 19, p. 1541.

- JAHREIS G., FRITSCHÉ J., STEINHART H. (1997): *Conjugated linoleic acid in milk fat: high variation depending on production system*, «Nutrition Research», 17, p. 1479.
- JAHREIS G., FRITSCHÉ J., KRAFT J. (1999b): *Species-Dependent, seasonal, and dietary Variation of Conjugated Linoleic Acid in Milk*, IN M.P. YURAWECZ, M.M. MOSSOBA, J.K.G. KRAMER, M.W. PARIZA AND G.J. NELSON (Ed.) *Advances in Conjugated Linoleic Acid Research*, AOCs Press, Champaign, IL, vol 1., pp. 214-225.
- JENKINS T.C. (1993): *Lipid metabolism in the rumen*, «J. Dairy Sci.», 76, p. 3851.
- JENKINS T.C. (1994): *Regulation of lipid metabolism in the rumen*, «J. Nutr.», 124, p. 1372ss.
- JENKINS T.C. and PALMQUIST D.L. (1984): *Effect of fatty acids and calcium soaps on rumen and total nutrient digestibility of dairy rations*, «J. Dairy Sci.», 67, p. 978.
- JESSE B.W., SOLOMON R.K., BALDWIN R.L. (1992): *Palmitate metabolism by isolated sheep rumen epithelial cells*, «J. Anim. Sci.», 70, p. 2235.
- JIANG J., BJOERK L., FONDEN R., EMANUELSON M. (1996): *Occurrence of conjugated octadecenoic acid in bovine milk: effects of feed and dietary regimen*, «J. Dairy Sci.», 79, p. 438.
- KEELE J.W., ROFFLER R.E., BEYERS K.Z. (1989): *Ruminal metabolism nonlactating cows fed whole cottonseed or extruded soybeans*, «J. Anim. Sci.», 67, p. 1612.
- KELLENS M.J., GODERIS H.L., TOBBACK P.P. (1986): *Biohydrogenation of unsaturated fatty acids by a mixed culture of rumen microorganisms*, «Biotechnol. Bioeng.», 28, p. 1268.
- KELLY M.L., KOLVER E.S., BAUMAN D.E., VAN AMBURGH M.E. (1998): *Effect of intake of pasture on concentrations of conjugated linoleic acid in milk of lactating dairy cows*, «J. Dairy Sci.», 81, p. 1630.
- KEPLER C.R., HIRONS K.I., MCNEILL P.H., TOVE S.B. (1967): *Intermediates and products of biohydrogenation of linoleic acid by Butyrivibrio fibrisolvens*, «J. Biol. Chem.», 241, p. 1350.
- KINSELLA J.E. (1972): *StearylCoA as a precursor of oleic acid and glycerolipids in mammary microsomes from lactating bovine: possible regulatory step in milk triglyceride synthesis*, «Lipids», 7, p. 349.
- KLUSMEYER T.H. and CLARK J.H. (1991): *Effects of dietary fat and protein on fatty acid flow to the duodenum and milk produced by dairy cows*, «J. Dairy Sci.», 74, p. 3055.
- KRAMER J.K.G., SEHAT N., DUGAN M.E.R., MOSSOBA M.M., YURAWECZ M., ROACH J.A.G., EULITZ K., AALHUS J., SCHAEFER A., AND KU Y. (1998): *Distribution of conjugated linoleic acid (CLA) isomers in tissue lipid classes of pigs fed a commercial CLA mixture determined by gas chromatography and silver ion high performance liquid chromatography*, «Lipids», 33, p. 549.
- LANGAR P.N., BUTTERY P.J., LEWIS D.E. (1975): *N-stearoyl-DL-methionine metabolism in sheep*, «J. Anim. Sci.», 41, p. 409 Abstract).
- LANGAR P.N., BUTTERY P.J., LEWIS D.E. (1978): *N-stearoyl-DL-methionine, a protected methionine source for ruminants*, «J. Sci. Food Agric.», 29, p. 208.
- MCGUIRE M.A. and MCGUIRE M.K. (1999): *Conjugated linoleic acid: a ruminant fatty acid with beneficial effects on human health*, «Proc. American Soc. Anim. Sci.», p. 118.

- MOORE J.H., NOBLE R.C., STEELE W., CZERKAWSKI (1969): *Difference in the metabolism of esterified and unesterified linoleic acid by rumen microorganism*, «Brit. J. Nutr.», 23, p. 869.
- MURPHY J.J., UDÉN P., PALMQUIST D.L., WIKTORSSON H. (1987): *Rumen and total diet digestibilities in lactating cows fed diets containing full fat rapeseed*, «J. Dairy Sci.», 70, p. 1522.
- NTAMBI J.M. (1985): *The regulation of stearoyl-CoA desaturase (SCD)*, «Prog. Lipid Res.», 34, p. 139.
- PALMQUIST D.L. and SCHANBACHER F.L. (1991): *Dietary fat composition influences fatty acid composition of milk fat globule membrane in lactating dairy cows*, «Lipids», 26, p. 718.
- PALMQUIST D.L. and JENKINS T.C. (1980): *Fat in lactation rations: review*, «J. Dairy Sci.», 63, p. 1.
- PARODI P.W. (1977): *Conjugated octadecenoic acids of milk fat*, «J. Dairy Sci.», 60, p. 1550.
- PARODI P.W. (1999): *Conjugated linoleic acid and other anticarcinogenic agents of bovine milk fat*, «J. Dairy Sci.», 82, p. 1339.
- POLLARD M.R., GUNSTONE F.D., JAMES A.T., MORRIS L.J. (1980): *Desaturation of positional and geometric isomers of monoenoic fatty acids by microsomal preparations from rat liver*, «Lipids», 15, p. 306.
- SECCHIARI P., ANTONGIOVANNI M., MELE M., SERRA A., BUCCIONI A., FERRUZZI G., PAOLETTI F. (2001a): *Effect of fat source on trans C18:1 fatty acids and CLA in milk fat of Italian Friesian cows*, in Proc. ASPA XIV Congress. Firenze, June 12-15, pp. 105-107.
- ULBERTH F. and HENNINGER M. (1994): *Quantification of trans fatty acids in milk fat using spectroscopic and chromatographic methods*, «J. Dairy Res.», 61, p. 517.
- VIVIANI R. (1970): *Metabolism of long chain fatty acids in the rumen*, «Adv. Lipid Res.», 8, p. 267.
- WARD R.J., TRAVERS M.T., RICHARDS S.E., VERNON R.G., SALTER A.M., BUTTERY P.J., BARBER M.C. (1998): *Stearoyl-CoA desaturase mRNA is described from a single gene in the ovine genome*, «Biochim. Biophys. Acta», 1391, p. 145.
- WHITE B.G., INGALLS J.R., SHARMA H.R., MCKIRDY J.A. (1987): *The effect of whole sunflower seeds on the flow of fat and fatty acids through the gastrointestinal tract of cannulated Holstein steers*, «Can. J. Anim. Sci.», 67, p. 447.
- WOOD R.D., BELL M.C., GRAINGER R.B., TEEKELL R.A. (1963): *Metabolism of labeled linoleic-C¹⁴ acid in the sheep rumen*, «J. Nutr.», 79, p. 62.
- WU Z., OHAJURUKA O.A., PALMQUIST D.L. (1991): *Ruminal synthesis, biohydrogenation and digestibility of fatty acids by dairy cows*, «J. Dairy Sci.», 74, p. 3025.
- WU Z. and PALMQUIST D.L. (1991): *Synthesis and biohydrogenation by ruminal microorganism in vitro*, «J. Dairy Sci.», 74, p. 3035.
- YURAWECZ M.P., ROACH J.A.G., SEHAT N., MOSSOBA M.M., KRAMER G., FRITSCHÉ J., STEINHART H., KU Y. (1998): *A new conjugated linoleic acid isomers, 7 trans, 9 cis-octadecadienoic acid, in cow milk, cheese, beef and human milk and adipose tissue*, «Lipids», 33, p. 803.

MARCELLO MELE*, ANDREA SERRA*, MARCO MANZO*,
FEDERICA PAOLETTI*, PIERLORENZO SECCHIARI*

LA SINTESI ENDOMAMMARIA DI CLA NEI RUMINANTI

INTRODUZIONE

Gli isomeri dell'acido linoleico coniugato (CLA) rappresentano una componente della frazione lipidica del grasso dei ruminanti strettamente collegata con le attività dei microrganismi ruminali e con le modificazioni che questi apportano ai lipidi contenuti nella dieta.

La presenza dei CLA nel grasso dei ruminanti è nota fin dall'inizio del XX secolo, per molti anni è stata messa in esclusiva relazione con i processi di bioidrogenazione ruminale e, in particolare, con il processo biochimico di riduzione dell'acido linoleico ad acido stearico, operato da microrganismi cellulosolitici quali il *Butyrivibrio fibrisolvens*. I primi due step del processo di bioidrogenazione dell'acido linoleico, infatti, portano alla formazione di isomeri geometrici e posizionali dell'acido linoleico coniugato e dell'acido octadecenoico (Kepler et al., 1966) e, per questo motivo, le prime ipotesi sulla presenza di CLA nel latte e nella carne dei ruminanti si basavano sul presupposto che questi gruppi di acidi fossero di esclusiva origine ruminale (Parodi, 1977). Anche la stretta relazione lineare esistente tra il contenuto di acido vaccenico (VA; *trans* 11 C18:1) e quello di *cis* 9, *trans* 11 CLA (ribattezzato acido rumenico; Kramer et al., 1998) nel latte, evidenziata da molti autori, inizialmente venne interpretata come conseguenza del fatto che entrambi gli acidi originavano dalla bioidrogenazione dell'acido lino-

* Dipartimento di Agronomia e Gestione dell'Agroecosistema, Settore Scienze Zootecniche, Università degli Studi di Pisa

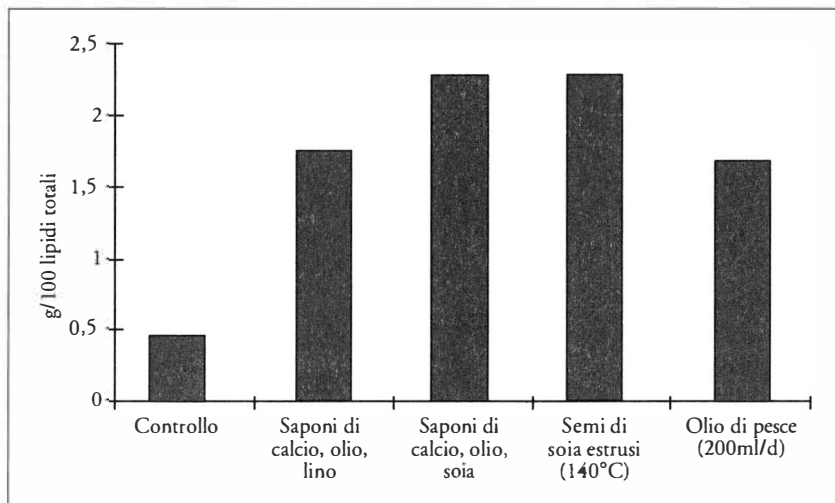


Fig. 1 *Effetto dell'inclusione di grassi ricchi in acido linoleico o acido α -linolenico sul contenuto di CLA del latte (adattata da Chouinard et al., 2001)*

leico (Jiang et al., 1996; Lawless et al., 1998). In realtà, come è stato chiarito successivamente, si trattava di una relazione substrato/prodotto legata al processo che, a livello tissutale, conduce da acido vaccenico ad acido rumenico.

Ciò che indusse a riconsiderare l'ipotesi sull'origine esclusivamente ruminale dei CLA furono i risultati di alcune sperimentazioni basate sulla somministrazione a bovine da latte di diete povere in acido linoleico, ma ricche di acido α -linolenico (C18:3 n-3) o di olio di pesce (Offer et al., 1999; Dhiman et al., 1999; Chouinard et al., 2001). In questi casi, infatti, è stato evidenziato un aumento di CLA nel grasso del latte (fig. 1), sebbene il processo di bioidrogenazione ruminale dell'acido α -linolenico non preveda la formazione di CLA come prodotti intermedi (fig. 2).

A questo si deve aggiungere che, secondo alcuni autori, durante i processi di bioidrogenazione ruminale l'acido rumenico avrebbe un'emivita molto breve e solo l'acido vaccenico sarebbe in grado di accumularsi nel liquido ruminale (Harfoot e Hazelwood, 1988).

Tutto ciò, in definitiva, rendeva difficilmente spiegabili gli alti livelli di CLA osservati nel latte e nella carne dei ruminanti, senza prevedere un apporto biosintetico alternativo a quello ruminale.

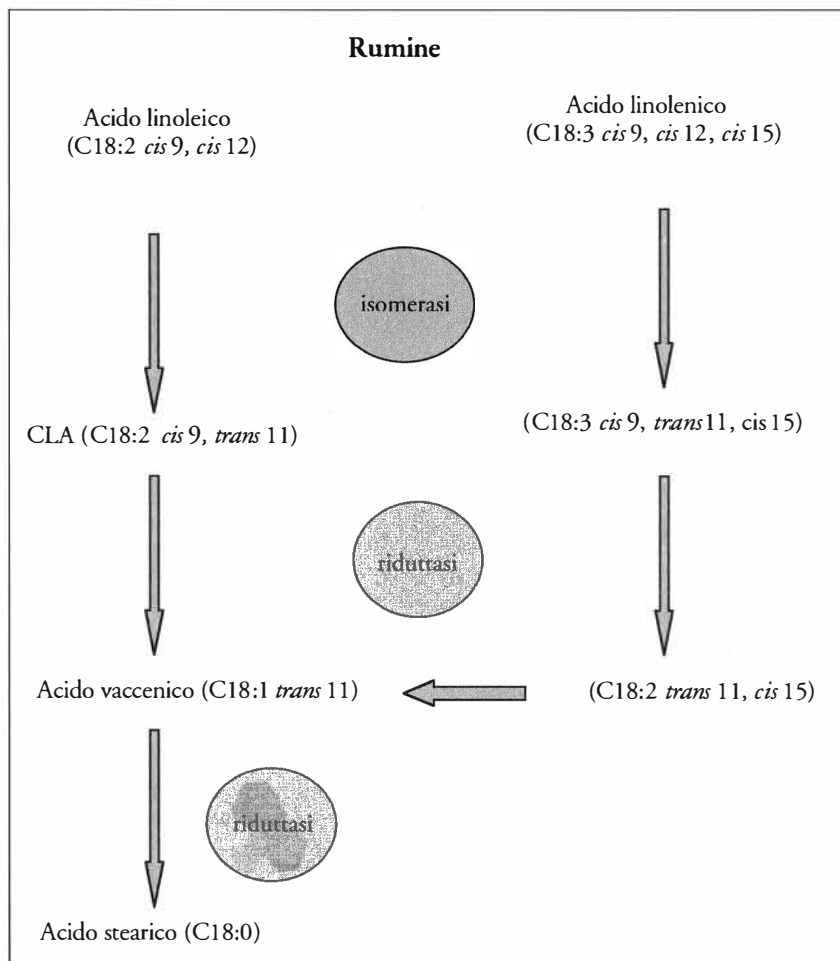


Fig. 2 Processi di bioidrogenazione ruminale dell'acido linoleico e dell'acido α -linolenico (modificato da Harfoot and Hazlewood, 1997)

LA SINTESI TESSUTALE DEL CLA

Il fatto che l'acido rumenico potesse derivare anche dall'attività di sintesi dei tessuti animali fu ipotizzato da Parodi (1994) basandosi sui risultati di ricerche precedenti che descrivevano i substrati dell'enzima $\Delta 9$ desaturasi, anche denominato Stearoil-CoA-Desaturasi (SCD), nei microsomi del fegato di ratto (Pollard et al., 1980;

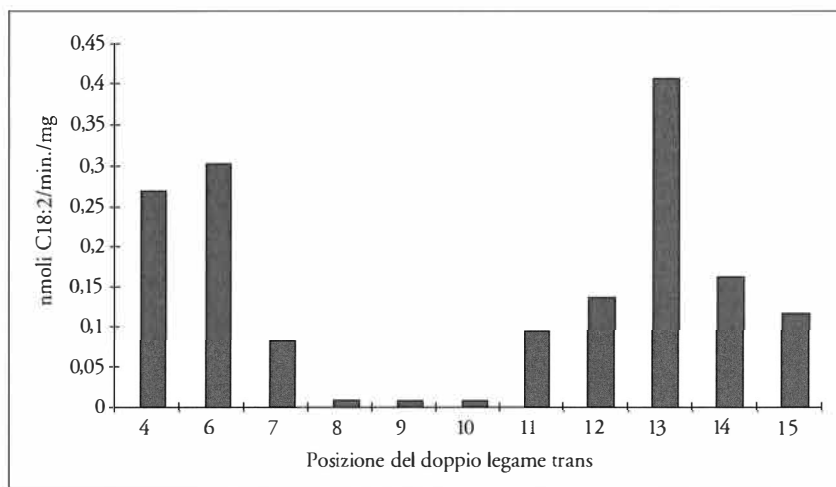


Fig. 3 Desaturazione degli isomeri *trans* del C18:1 in isomeri *trans*-, *cis*9 C18:2, da parte dell'enzima $\Delta 9$ desaturasi nel fegato di ratto (da Holman and Mahfouz, 1981)

Holman e Mahfouz, 1981). In questi studi veniva chiaramente evidenziata la possibilità da parte dell'SCD di desaturare la maggior parte degli isomeri *trans* C18:1 ad eccezione di quelli che contenevano il doppio legame in posizione $\Delta 8$, $\Delta 9$ e $\Delta 10$, per i quali l'efficienza di conversione non risultava misurabile (fig. 3). In particolare, il tasso medio di desaturazione degli isomeri *trans* 11, *trans* 7, *trans* 12 e *trans* 14 C18:1, ad opera dell'SCD, era pari a 0.088 nmol/mg/min. (Holman e Mahfouz, 1981).

In precedenza, studi su cellule microsomiali di fegato di ratto avevano consentito di definire gli acidi grassi saturi a 16, 17 e 18 atomi di carbonio come i substrati preferenziali per l'enzima SCD (Pollard et al., 1980). Tutti gli isomeri *trans* del C18:1, inoltre, tranne quelli insaturi in posizione $\Delta 8$, $\Delta 9$ e $\Delta 10$, sembravano poter essere desaturati in maniera estesa. Gli isomeri *cis* del C18:1 con doppio legame prima della posizione $\Delta 13$, invece, non costituivano substrato utile per l'attività di questo enzima.

Sulla base di questi risultati è stata ipotizzata anche la biosintesi tessutale dell'isomero *trans* 7, *cis* 9 CLA (Salminen et al., 2001), che in effetti è stato identificato in diversi prodotti dei ruminanti quali il latte e il formaggio vaccino, il grasso della carne oltre che nel latte e nel tessuto adiposo umano (Yurawecz et al., 1998); dal punto

di vista quantitativo, tuttavia, l'isomero più importante rimane sicuramente l'acido rumenico.

Per quanto riguarda i ruminanti, è noto da tempo il fatto che, durante la lattazione, nel tessuto mammario è attivo l'enzima SCD (Kinsella, 1972). La ghiandola mammaria, infatti, è in grado di controllare la fluidità del grasso del latte proprio mediante la conversione dell'acido stearico in acido oleico, che compete con gli acidi grassi a corta catena per la posizione *sn-3* sul trigliceride (Palmquist et al., 1993).

La prova che le cellule della ghiandola mammaria fossero in grado di desaturare anche l'acido vaccenico ad acido rumenico, introducendo un doppio legame in posizione $\Delta 9$ mediante l'enzima SCD, fu ottenuta somministrando per via abomasale a bovine in lattazione una miscela di acido vaccenico e di *trans* 12 C18:1. L'acido rumenico così come l'isomero *cis* 9, *trans* 12 C18:2, assenti nel grasso del latte nel periodo presperimentale, aumentarono progressivamente durante i tre giorni di trattamento, evidenziando chiaramente un'attività desaturasica a carico dei due acidi introdotti per via abomasale (Corl et al., 1998).

Successivamente altre ricerche confermarono questi risultati ed introdussero nuovi elementi di conoscenza sul rapporto fra acido vaccenico e acido rumenico. Corl et al. (1999) arrivarono ad una prima stima della quantità di acido rumenico prodotta a livello tissutale per opera dell'enzima SCD, mediante l'utilizzo di acido sterculico come inibitore di questo enzima. L'acido sterculico è un acido grasso a 19 atomi di carbonio contenente un anello di ciclopropene tra il nono e il decimo atomo di carbonio ed è estraibile dai semi di *Sterculia foetida*, che hanno un contenuto di sostanza grassa che va dal 17 al 23% (Corl et al., 2001). Tale acido grasso rappresenta il 55% della frazione acidica dell'olio di *Sterculia foetida* ed è in grado di inibire in maniera specifica l'enzima SCD. La sua somministrazione a vacche in lattazione determina una netta modificazione della composizione acidica del latte, lasciando inalterate sia l'assunzione di sostanza secca sia le produzioni totali di latte e di grasso (Corl et al., 1999). In questo primo studio, gli effetti della somministrazione per via abomasale di acido sterculico (in quantità pari a 10g/d) sull'attività dell'SCD sono stati resi evidenti dall'aumento (+ 181%) del rapporto tra

acido stearico (C18:0) ed acido oleico (C18:1) e dalla contemporanea diminuzione della quantità di CLA nel grasso del latte (-40%). Questa percentuale è stata interpretata come il contributo minimo apportato dalla sintesi endogena al contenuto di CLA nel grasso del latte.

Questa stima è stata successivamente perfezionata sulla base dei risultati di ulteriori sperimentazioni incentrate sempre sull'utilizzo dell'acido sterculico come inibitore dell'SCD. Griinari et al. (2000), a seguito dell'infusione abomasale di 10g/d di acido sterculico a bovine in lattazione, ottennero una riduzione del contenuto di CLA nel grasso del latte pari al 45%. Parallelamente osservarono un aumento del contenuto di acido vaccenico e una diminuzione di altri acidi grassi monoinsaturi quali il miristoleico (C14:1 *cis* 9) e il palmitoleico (C16:1 *cis* 9). L'acido miristoleico, in particolare, si pensa che sia di esclusiva neoformazione in virtù del fatto che la ghiandola mammaria sintetizza autonomamente tutti gli acidi grassi a media e corta catena, compreso l'acido miristico (C14:0). Eventuali variazioni nel rapporto C14:1/C14:0, quindi, dipenderebbero esclusivamente dal livello di attività dell'enzima SCD. L'entità della diminuzione di questo rapporto è stata pertanto considerata come un indice del potere inibente dell'acido sterculico nei confronti dell'SCD ed utilizzata come fattore di correzione per il calcolo dell'apporto endogeno di CLA. Sulla base di queste considerazioni la somministrazione di 10g/d di acido sterculico ridurrebbe del 70% l'attività dell'enzima SCD e, pertanto, il reale apporto della sintesi endogena di *cis* 9, *trans* 11 CLA sarebbe superiore al dato inizialmente calcolato (45%), attestandosi su valori intorno al 64% (Griinari et al., 2000). È interessante sottolineare che una delle tesi sperimentali di questo studio consisteva nella somministrazione di retinol palmitato come sostanza in grado di incrementare l'attività tissutale dell'enzima SCD, alla stregua di quanto osservato in precedenti esperienze su topi (Miller et al., 1997). In questo caso, tuttavia, i livelli degli acidi grassi normalmente prodotti dall'attività dell'enzima non hanno subito alcuna modificazione sostanziale, probabilmente a causa dell'accumulo di retinol palmitato a livello epatico (Banni, comunicazione personale).

L'ultimo studio in ordine di tempo, finalizzato a determinare il reale apporto delle sintesi endogene al contenuto di *cis* 9, *trans* 11

CLA nel latte, è stato eseguito somministrando per via abomasale, a bovine in lattazione, olio vegetale idrogenato (come fonte di acido vaccenico), oppure olio di semi di *Sterculia foetida* (per il suo contenuto in acido sterculico), o una miscela di entrambi i lipidi. Anche in questo caso, pertanto, l'approccio metodologico prevedeva l'inibizione dell'enzima SCD tramite l'azione dell'acido sterculico, in modo da stimare l'apporto delle sintesi tessutali confrontando il contenuto di CLA del latte ottenuto con la dieta controllo e quello del latte derivante dalle bovine alimentate con la dieta trattata. I risultati, opportunamente corretti tenendo conto del rapporto tra acido miristoleico e acido miristico, hanno portato ad elevare il valore delle stime precedenti al 78% (Corl et al., 2001).

In definitiva, appare chiaro che la possibilità di utilizzare sostanze inibenti rappresenta un ottimo sistema per quantificare l'attività di un enzima; è altrettanto evidente, tuttavia, che, nel caso dell'enzima SCD, la non completa inibizione operata dall'acido sterculico sembra non garantire un'adeguata ripetibilità delle stime fino ad ora riportate (il range di variazione, infatti, va dal 40 al 78%).

Un'alternativa a questo tipo di approccio sperimentale potrebbe essere rappresentata dalla possibilità di operare un bilancio arterio-venoso dei metaboliti ematici che giungono alla ghiandola mammaria, in modo da determinare la quantità di acido rumenico che essa preleva dal flusso ematico e, quindi, per differenza rispetto alla quantità secreta nel grasso del latte, la quota sintetizzata nel tessuto mammario. Questa metodologia, del resto, è già stata utilizzata, fornendo risultati soddisfacenti, per stimare l'attività di desaturazione del tessuto mammario relativamente alla conversione dell'acido stearico ad acido oleico. In questo caso la quantità di C18:0 in cui è stato inserito un doppio legame in posizione $\Delta 9$ è risultata essere pari al 52% (Enjalbert et al., 1998).

A prescindere da queste considerazioni, tuttavia, è possibile affermare che la fonte maggiore dell'isomero *cis* 9, *trans* 11 CLA, che è anche quello quantitativamente più importante e cui sono attribuite importanti funzioni biologiche in relazione alla salute umana (Parodi, 1999), è rappresentata dalla sintesi endogena a livello tessutale (Bauman et al., 2001).

Il contenuto di CLA totale nel latte e nella carne dei ruminanti, quindi, è funzione, da un lato, del flusso in uscita dal rumine dei

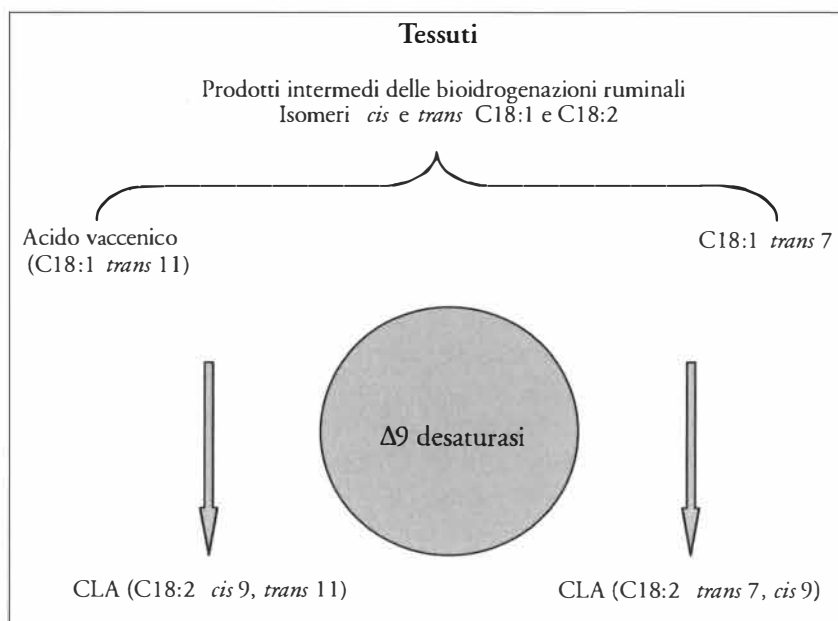


Fig. 4 *Processo di biosintesi tessutale dei CLA*

diversi isomeri geometrici e posizionali dell'acido linoleico e dell'acido oleico e, dall'altro, dell'attività tessutale dell'enzima $\Delta 9$ desaturasi che è in grado di utilizzare come substrati due isomeri *trans* C18:1 (il *trans* 7 e il *trans* 11) e di convertirli nei rispettivi isomeri coniugati dell'acido linoleico, inserendo un secondo doppio legame in posizione $\Delta 9$ (fig. 4).

In questi ultimi anni è stato accertato che, anche in specie non ruminanti come l'uomo e il topo, la presenza di acido vaccenico nella dieta può portare alla formazione di acido rumenico a livello tessutale per opera dell'enzima SCD (Santora et al., 2000; Adlof et al., 2000).

Benché la capacità di sintetizzare acido rumenico a partire dal suo precursore sembri essere comune a molte specie, esistono, tuttavia, differenze sostanziali che vedono, ad esempio, il grasso del latte e dei tessuti di animali appartenenti alle specie ruminanti, caratterizzato da contenuti più elevati di acido rumenico rispetto ai monogastrici (tab. 1).

	RUMINANTI				NON RUMINANTI		
	PECORA	VACCA	DROMEDARIA	CAPRA	DONNA	SCROFA	CAVALLA
CLA (g/100g grasso)	1.2%	0.7%	0.7%	0.6%	0.4%	0.2%	0.1%

Tab. 1 *Contenuto medio di CLA nel latte di differenti specie (modificata da Jahreis et al., 1999)*

La ragione di questa differenziazione è legata, in prima istanza, alla disponibilità di precursori che, nei ruminanti, è evidentemente superiore, in virtù del continuo apporto di acido vaccenico garantito dai processi di bioidrogenazione ruminale.

Esiste, tuttavia, una difficoltà intrinseca nell'operare questo tipo di confronti, che è legata ai differenti *habitus* alimentari delle specie considerate. Se, infatti, la sintesi endogena di acido rumenico rappresenta realmente la fonte primaria di CLA, il confronto tra individui di specie differenti può essere significativo solo a parità di disponibilità di substrato. In caso contrario l'esistenza di eventuali differenze nell'espressione e nell'attività dell'enzima SCD fra le varie specie verrebbe mascherata dagli effetti dei diversi regimi alimentari cui sono sottoposti gli animali.

Malgrado questa difficoltà, alcune evidenze sperimentali sembrerebbero confermare l'esistenza di differenze specie-specifiche nella capacità di convertire l'acido vaccenico in acido rumenico. In particolare, nell'ambito dei prodotti dei ruminanti, il latte che contiene la maggior quantità di CLA e, pertanto di acido rumenico, è quello ovino, seguito da quello bovino e da quello caprino. Nell'ambito dei monogastrici, è il latte di donna a contenere la quantità più elevata di CLA (Jahreis et al., 1999).

Ritornando ai ruminanti, un recente studio sulla composizione acidica del grasso del latte e dei lipidi di deposito dei dromedari ha fornito un interessante spunto per comprendere l'effetto della specie sulla disponibilità a livello tissutale di substrati di provenienza ruminale (Wolff et al., 2001). Gli autori, infatti, dopo aver caratterizzato il profilo acidico di questi lipidi ed averlo confrontato con quello del grasso del latte bovino, hanno messo in evidenza che i processi di bioidrogenazione che avvengono nei prestomaci dei dromedari ad opera della microflora danno origine agli stessi isomeri *cis* e *trans* C18:1 (in proporzioni relative perfettamente confrontabili),

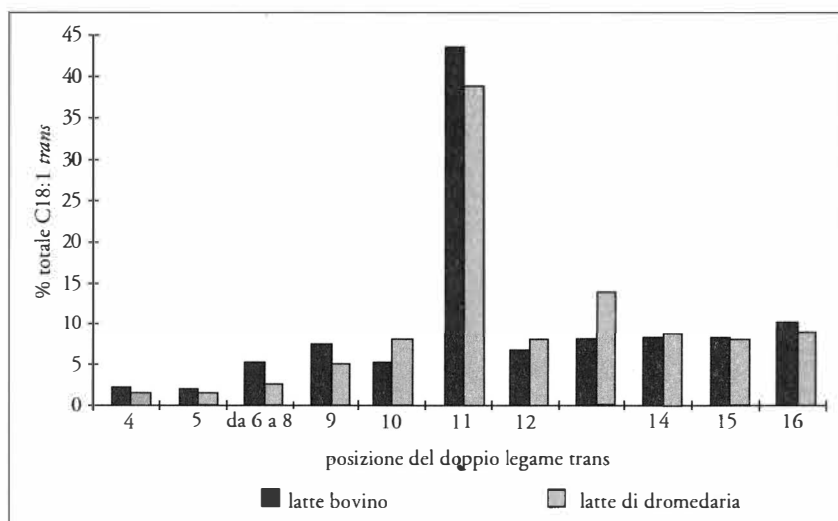


Fig. 5 Distribuzione percentuale degli isomeri trans C18:1 nel latte bovino e di dromedaria (adattato da Wolff et al., 1998; 2001)

riscontrabili nel grasso del latte di animali veri ruminanti come i bovini (fig. 5). Appare evidente, pertanto, che se ciò fosse confermato e, nelle normali condizioni di alimentazione, il pattern degli isomeri C18:1 fosse confrontabile tra le diverse specie di ruminanti, allora le differenze riscontrate relativamente al contenuto di acido rumenico nel latte di ovini, bovini e caprini potrebbero trovare una spiegazione anche nella diversa efficienza di utilizzazione dell'acido vaccenico da parte di individui di specie diverse.

Nell'ambito delle singole specie è sicuramente più semplice mettere a confronto individui appartenenti a razze differenti mantenendo costante l'alimentazione.

Sia tra i bovini sia tra gli ovini, pertanto, è stato possibile individuare razze caratterizzate da un più elevato contenuto di CLA, a parità di regime alimentare. In generale il latte delle vacche del tipo genetico Holstein, rispetto a quelle di razza Jersey, contiene una maggior quantità di acido octadecenoico (tra cui l'isomero *trans* 11) e di acido rumenico e questo sia nel caso di alimentazione tradizionale a base di foraggio conservato e concentrati, sia nel caso che la dieta preveda l'assunzione di foraggi freschi tramite il pascolamento (White et al., 2001).

In uno studio condotto con vacche in lattazione appartenenti a quattro differenti razze (Frisona Irlandese, Frisona Olandese, Montbeliard e Normanna) tenute al pascolo, è stato possibile evidenziare differenze sostanziali fra i tipi genetici considerati sia per quanto riguarda la quantità totale di C18:1, complessivamente più elevata nel latte delle due razze francesi, sia per quanto riguarda il contenuto degli isomeri *trans* C18:1 e di CLA (Lawless et al., 1999). Il latte delle vacche di razza Montbeliardes è risultato quello con il maggior contenuto di entrambe le frazioni e con un più elevato rapporto tra CLA e acidi grassi *trans* C18:1 (0.34; 0.31; 0.33; 0.31 rispettivamente per Montbeliard, Normanna, Frisona Olandese e Frisona Irlandese).

Per quanto riguarda gli ovini, il numero degli studi sul contenuto di CLA nel grasso del latte e della carne è di gran lunga inferiore a quello disponibile per i bovini ed è ancora più difficile reperire informazioni sulle differenze fra le razze a parità di regime dietetico, tuttavia, i pochi dati a disposizione suggeriscono la possibilità che, anche fra gli ovini, vi siano razze con una maggior attitudine alla produzione di CLA e, nella fattispecie, di acido rumenico.

Un recente studio condotto su tre greggi appartenenti a tre razze italiane di pecore da latte (Massese, Sarda e Garfagnina) ha evidenziato che il contenuto di CLA totale e di acido rumenico in particolare nel grasso del latte è influenzato in maniera significativa dalla razza oltre che dalla stagione di produzione, e che le due razze autoctone toscane (Massese e Garfagnina) sembrano essere quelle con il tenore più elevato (Secchiari et al., 2001a).

Sempre nell'ambito della specie ovina, ma relativamente alla composizione dei lipidi intramuscolari, l'effetto razza è risultato significativo nel confronto fra agnelli Suffolk e Blackface. Il livello di CLA nel muscolo semimembranoso dei primi, infatti, (espresso come grammi di acido grasso su 100 grammi di lipidi neutri) era 0.76% contro lo 0.86% dei secondi (Demirel et al., 2001).

Differenze sostanziali nel contenuto di RA sono state evidenziate, a parità di regime dietetico, anche nel grasso del latte di individui appartenenti alla medesima razza (figg. 6 e 7).

Prove di alimentazione condotte per determinare l'influenza di differenti diete sul contenuto di CLA nel latte hanno messo in evidenza, infatti, una notevole variabilità individuale fra le bovine sot-

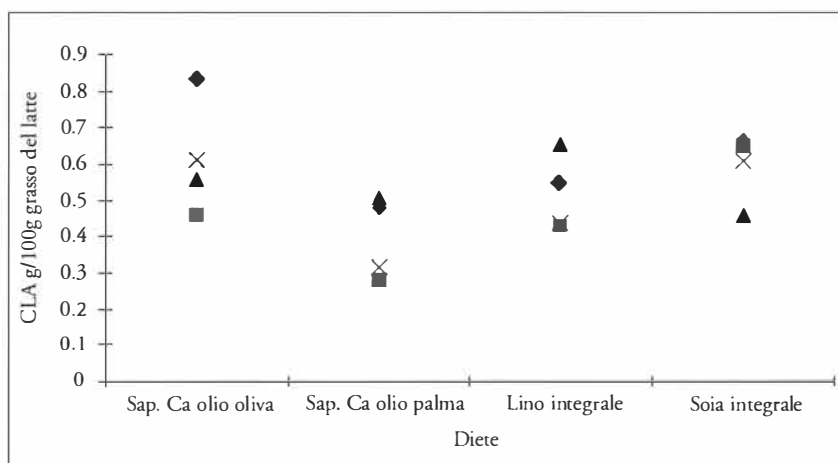


Fig. 6 Variabilità del contenuto di CLA nel latte di vacche alimentate con differenti diete grassate (Secchiari et al., 2001b)

toposte allo stesso trattamento, a prescindere dalla tipologia di alimentazione (Kelly et al., 1998a; Kelly et al., 1998b; Secchiari et al., 2001b; White et al., 2001).

È stata osservata, inoltre, una correlazione alta e significativa tra i livelli di CLA misurati in campioni individuali di latte ripetuti nel tempo. Questo fatto ha suggerito la possibilità che bovine che producono elevate quantità di CLA nel grasso del latte possano mantenere gli stessi livelli produttivi nel corso dell'intera lattazione, così come fra una lattazione e la successiva (Lawless et al., 1999). Quest'ultimo aspetto, tuttavia, dovrebbe essere avvalorato da ulteriori approfondimenti.

Un altro elemento di caratterizzazione dell'attività tessutale dell'enzima SCD è rappresentato dai rapporti fra gli acidi monoinsaturi in posizione $\Delta 9$ e il loro corrispondente acido grasso saturo (C14:1/C14:0; C16:1/C16:0; C18:1/C18:0), che possono essere utilizzati come indici dell'attività desaturasica. Mediante questo approccio è stato possibile evidenziare anche alcune differenze nell'ambito di razze come la Frisone Italiana e la Bruna. I dati di uno dei pochi studi disponibili in letteratura, finalizzato alla caratterizzazione della composizione acidica del latte di animali di razze differenti alimentati con le stesse razioni, mostrano, infatti, che la raz-

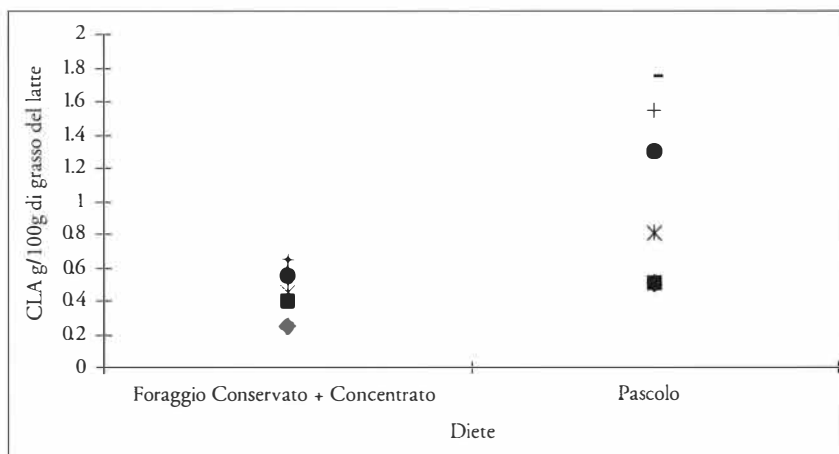


Fig. 7 Variabilità del contenuto di CLA nel latte di vacche alimentate al pascolo o con una dieta standard (Kelly et al., 1998a)

za Bruna avrebbe un maggior rapporto acido oleico/acido stearico rispetto alla razza Frisone Italiana (Polidori et al., 1993). Purtroppo, pur essendo disponibili i valori relativi al contenuto di acido vaccenico, la mancanza del dato relativo alla percentuale di CLA non ha consentito di quantificare anche il rapporto acido rumenico/acido vaccenico.

Trattandosi di una relazione substrato-prodotto, infatti, anche la regressione fra acido rumenico e acido vaccenico è stata proposta come indice dell'attività desaturasica del tessuto (Griinari e Bauman, 1999).

Nei bovini da latte, la relazione lineare tra il *trans* 11 C18:1 e il *cis* 9, *trans* 11 CLA nel grasso del latte, riscontrabile in un ampio range di concentrazioni, suggerisce un'elevata attività biosintetica dell'enzima SCD, anche su un substrato quale l'acido vaccenico. Il coefficiente angolare, tuttavia, può assumere valori diversi che, nel caso di animali alimentati con diete differenti, possono essere imputati all'influenza di alcuni fattori dietetici sull'attività enzimatica, ma nel caso di confronti operati a parità di alimentazione, sono presumibilmente da ricondurre all'intervento di cause di natura genetica. Nel caso delle vacche da latte, la relazione lineare fra i due acidi, pur abbracciando un range molto ampio di concentra-

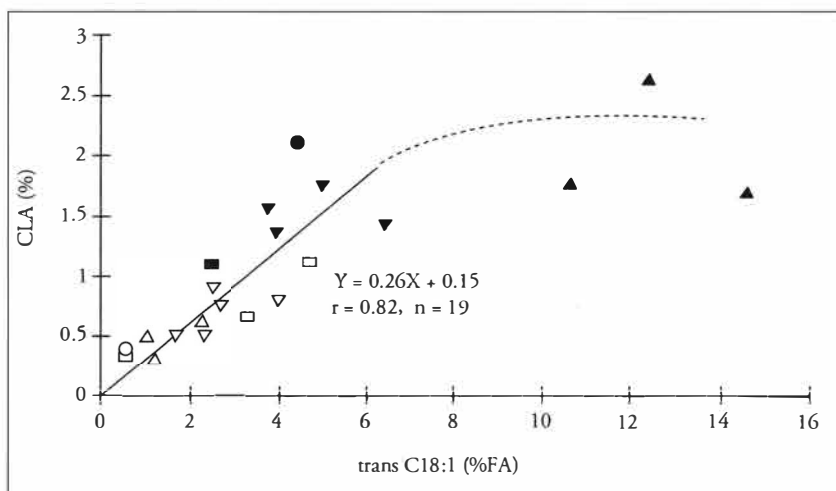


Fig. 8 Relazione tra il contenuto di acido rumenico e di acido vaccenico nel latte di bovine alimentate con differenti diete (da Chilliard et al., 2000)

zioni, sembrerebbe tendere ad un plateau in corrispondenza di tenori di acido vaccenico superiori al 6% (fig. 8; Chilliard et al., 2000).

Negli ovini da latte, malgrado la quantità di dati disponibili sia decisamente più ridotta, i valori del coefficiente di regressione tra acido vaccenico e acido rumenico sono confrontabili con quelli riportati per i bovini da latte e la relazione sembra mantenere le proprie caratteristiche di linearità (almeno nella razza Massese) anche per concentrazioni di acido vaccenico superiori al 6% (figg. 9, 10 e 11). La razza Massese, in particolare, sembra essere quella con la migliore efficienza di conversione rispetto alla razza Garfagnina (una razza autoctona della Toscana come la precedente, ma di numerosità assai ridotta) e alla razza Sarda (Secchiari et al., 2001a). Il valore del coefficiente angolare, infatti, è di poco superiore a quello riscontrato per la Garfagnina, ma sensibilmente più alto rispetto a quello della razza Sarda. A queste differenze, naturalmente fanno riscontro differenti quantità di acido rumenico nel grasso del latte.

Esistono, in definitiva, numerose evidenze sperimentali che indicano la presenza di una variabilità tra specie, tra razze e tra indi-

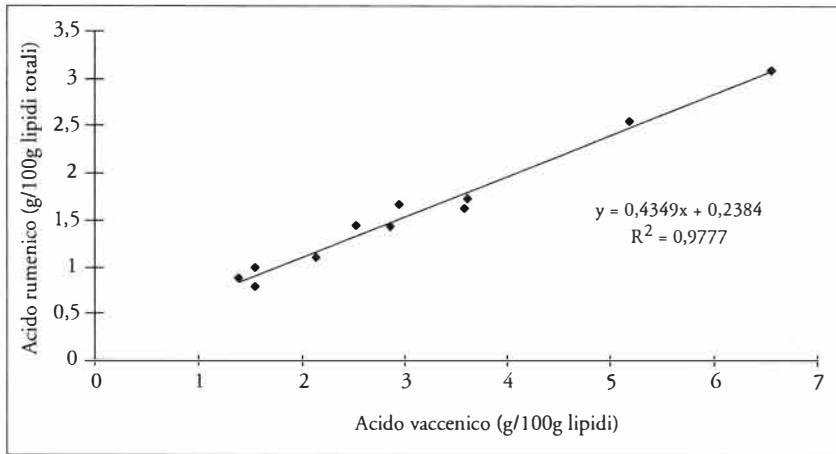


Fig. 9 *Relazione tra l'acido rumenico e l'acido vaccenico nel grasso del latte di pecore di razza Massese*

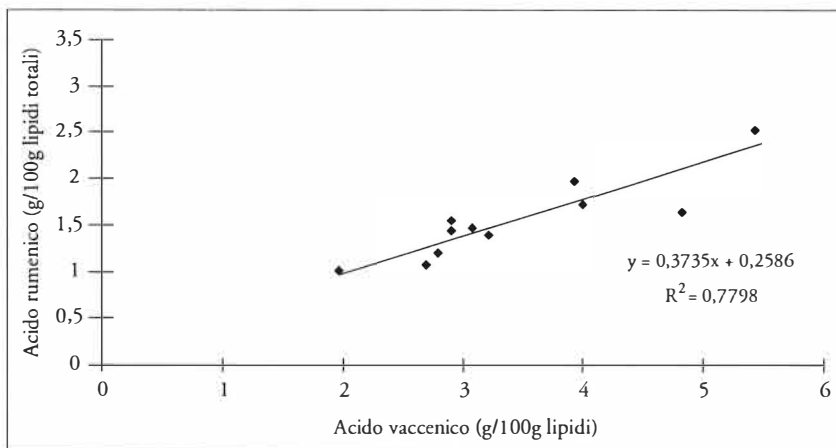


Fig. 10 *Relazione tra l'acido rumenico e l'acido vaccenico nel grasso del latte di pecore di razza Garfagnina*

vidui che hanno fatto accrescere in maniera sostanziale l'interesse per lo studio dell'enzima SCD, al fine di comprendere, nelle diverse specie di animali ruminanti e non ruminanti, quali siano i principali fattori di variazione che modulano la presenza e l'attività di questo enzima nei diversi tessuti.

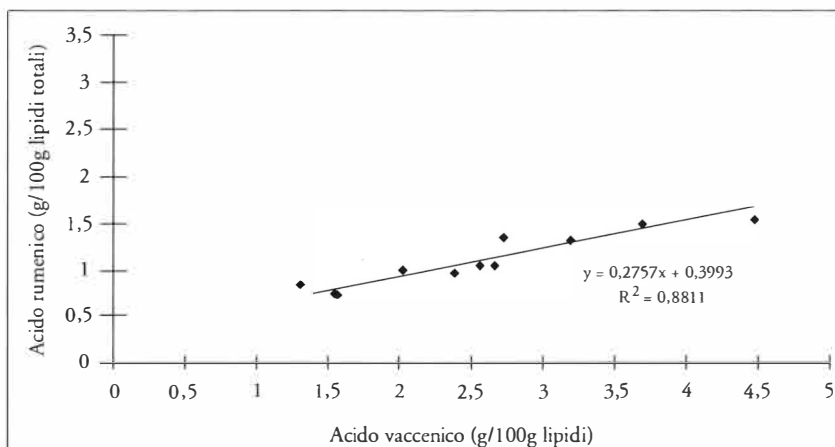


Fig. 11 *Relazione tra l'acido rumenico e l'acido vaccenico nel grasso del latte di pecore di razza Sarda*

L'ENZIMA STEAROIL-COA-DESATURASI (SCD)

Le desaturasi dei mammiferi catalizzano l'introduzione di un doppio legame su substrati acil-CoA, agendo da donatori terminali di elettroni in una catena di trasporto elettronico coinvolgente NADH citocromo, b5 riduttasi e citocromo b5 (Enoch et al., 1976; fig. 12).

Si tratta di proteine integrali di membrana caratterizzate da una breve emivita, indotte nel reticolo endoplasmatico in risposta ad un'ampia serie di fattori dietetici e di stimoli chimici (principalmente ormonali) (Ntambi, 1995). La posizione nella quale viene introdotto il doppio legame nella catena policarboniosa è determinato dalla specificità enzimatica.

Lo Stearoil-CoA-Desaturasi (SCD) è un enzima microsomiale contenente ferro che catalizza una reazione ossidativa per l'introduzione di un doppio legame in conformazione *cis* in posizione $\Delta 9$ (tra il carbonio 9 e 10 della catena) in un largo spettro di substrati acilici ed il cui principale ruolo metabolico nei mammiferi consta nel contributo alla regolazione della integrità e della fluidità della membrana che influenzano indirettamente lo sviluppo cellulare (Ntambi, 1999). Come suggerisce il nome stesso dell'enzima, l'acido stearico rappresenta il substrato preferenziale per questo enzima,

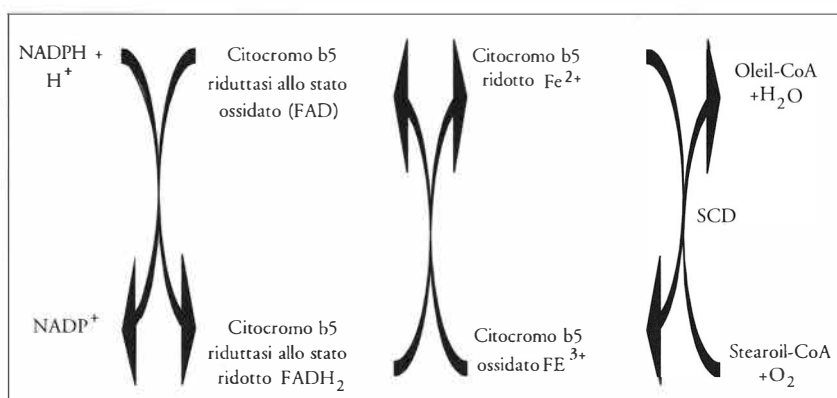


Fig. 12 Trasferimento degli elettroni durante il processo di desaturazione degli acidi grassi operato dall'enzima Stearoyl-CoA desaturasi (SCD)

tuttavia altri acidi grassi saturi ed insaturi possono essere desaturati, sebbene con differente efficienza. L'acido palmitico e l'acido miristico sono i due acidi grassi saturi maggiormente utilizzati dopo quello stearico, mentre fra i monoinsaturi, come accennato in precedenza, gli isomeri *trans* C18:1 (ma non quelli *cis*) costituiscono possibili substrati per questo enzima (Holman e Mahfouz, 1981).

Costitutivamente ed ubiquitariamente espresso, l'enzima SCD è tuttavia soggetto, almeno in alcuni tessuti, ad un forte controllo dell'attività che coinvolge la dieta, la temperatura, metalli, la vitamina A ed i proliferatori perossisomiali, oltre ai fenomeni legati ai processi di sviluppo (Ntambi, 1995; 1999).

Nei mammiferi il gene SCD è conservato sia nella sequenza che nella composizione esonica (sei esoni), con una marcata specificità tessutale per la sequenza delle regioni non tradotte. Tale specificità è frutto, nell'uomo, di un utilizzo alternativo di segnali di poliadenilazione (Zhang et al., 1999), mentre nel caso dei roditori, ove il gene è duplicato, frutto di espressione differenziale (Ntambi et al., 1998).

Nozioni acquisite circa la struttura del gene nei ruminanti e l'espressione nella ghiandola mammaria sono molto limitate e frammentarie. Sono note le sequenze della porzione codificante degli mRNA maturi di bovino, pecora e capra, mentre la sequenza completa è nota solo nella capra (Bernard et al., 2001). Circa la localizzazione cromosomica, il gene è stato mappato in bovino a livello

della regione 26q21 (Campbell et al., 2001) ed in pecora nella regione sintenica 22q21 (Ward et al., 1998).

Nell'ambito della specie bovina sono stati identificati tre polimorfismi strettamente collegati che, nelle razze Holstein, Jersey e Bruna, formano, al livello del 5° esone, due aplotipi conservati. I primi due polimorfismi costituiscono due sostituzioni silenziose di basi corrispondenti agli aminoacidi prolina e tirosina, il terzo, invece, comporta un cambio di codone che implica la sostituzione di una molecola di valina con una di alanina (Medrano et al., 1999).

Anche nella specie caprina è stato identificato un polimorfismo nella regione codificante dovuto ad una delezione (tre nucleotidi) a livello della regione 3' non tradotta (Bernard et al., 2001).

Il significato biologico di tali polimorfismi è tuttavia ad oggi ignoto.

Circa i livelli di trascrizione genica nei diversi tessuti, i dati di interesse zootecnico sono soprattutto quelli riguardanti i tessuti adiposo e mammario. Nell'epitelio mammario dei ruminanti in lattazione, le uniche informazioni in merito riguardano un forte incremento nel corso della lattazione (Kinsella et al., 1972; Bickerstaffe e Annison, 1970), in concomitanza con un decadimento dell'espressione nel tessuto adiposo, ove in altre condizioni metaboliche il livello di espressione è elevato (Cameron et al., 1994).

Circa l'espressione nel tessuto adiposo, invece, i dati sono più numerosi.

Nei bovini in accrescimento è stato ad esempio osservato che la quantità di mRNA dell'SCD e, presumibilmente, l'attività stessa dell'enzima sono massime in corrispondenza della differenziazione terminale dei preadipociti e, di conseguenza, potrebbero essere prese in considerazione come marker dell'inizio della neolipogenesi (Martin et al., 1999). Il livello di lipogenesi in vitelli di razza Angus dopo lo svezzamento risulta essere piuttosto basso fino ai 13 mesi di età, dopo di che aumenta progressivamente raggiungendo valori molto elevati in corrispondenza dell'età di macellazione (18 mesi). Parallelamente la concentrazione di mRNA dell'SCD si mantiene bassa fino a i 12 mesi di età, quando raggiunge il valore massimo. Poiché il picco di mRNA dell'SCD precede l'inizio del processo di lipogenesi e di riempimento degli adipociti, il livello di espressione del gene SCD è stato proposto co-

me marker della differenziazione terminale dei preadipociti e di inizio della neolipogenesi (Martin et al., 1999).

Nell'ambito del tessuto lipidico, tuttavia, è stata osservata un'ulteriore differenziazione a seconda dei depositi adiposi considerati. In particolare, con l'aumentare del volume degli adipociti la concentrazione di SCD non varia nei depositi lipidici addominali, che evidenziano, pertanto, un minor contenuto di acidi C18:1, mentre aumenta in quelli subcutanei e intramuscolari che sono contraddistinti da valori più elevati di acidi grassi monoinsaturi (Barber et al., 2000).

CLA E METABOLISMO LIPIDICO DELLA GHIANDOLA MAMMARIA

Tra i prodotti delle bioidrogenazioni ruminali è compreso un gruppo di acidi grassi insaturi a 18 atomi di carbonio che svolge un ruolo molto importante nella regolazione di alcuni enzimi chiave del metabolismo lipidico. Si tratta degli isomeri *trans* dell'acido octadecenoico e del CLA.

In esperienze condotte su topi, ratti e suini sono state osservate riduzioni del grasso corporeo e aumento della massa magra nel corso dell'accrescimento, a seguito di integrazioni alimentari con miscele di isomeri CLA contenenti anche il *trans* 10, *cis* 12 (Park et al., 1999). Tra i meccanismi proposti per spiegare tale fenomeno, gli incrementi dei tassi di lipolisi e di ossidazione degli acidi grassi, nonché la diminuzione del prelievo e dello stoccaggio dei trigliceridi da parte degli adipociti sembrano essere quelli più evidenti (Pariza et al., 1997; Jahreis et al., 2000).

Anche il fenomeno della riduzione del contenuto lipidico del latte dei ruminanti in particolari condizioni di alimentazione è stato recentemente rivisitato alla luce degli effetti di alcuni particolari acidi grassi *trans* sull'attività dei principali enzimi del metabolismo lipidico (Bauman e Griinari, 2001).

Si tratta del fenomeno della *Milk Fat Depression* con il quale si indica una serie di anomalie metaboliche che conducono ad una riduzione dei lipidi del latte nei bovini, a seguito di somministrazione di diete con un elevato rapporto concentrati/foraggi, soprattutto se recanti particelle di fibra di piccole dimensioni, oppure arricchite con grassi non protetti, depressori della cellulolisi ruminale.

In realtà l'ipotesi che gli acidi grassi *trans* potessero inibire la sintesi dei grassi nella ghiandola mammaria fu proposta per la prima volta più di trent'anni fa da Davis e Brown (1970) e successivamente ripresa da Pennington e Davis (1975). Questi studi, tuttavia, non chiarirono, in conseguenza della mancanza di mezzi tecnici sufficienti a caratterizzare con precisione l'intera frazione *trans* degli acidi grassi a 18 atomi di carbonio, se il fenomeno osservato fosse conseguenza dell'azione di tutti gli isomeri o solo di alcuni.

Successivamente anche altri studi misero in evidenza che la somministrazione per via abomasale di miscele di isomeri *trans* del C18:1 o di miscele di isomeri del CLA comportava una riduzione del contenuto di grasso del latte, lasciando invariata la produzione totale di latte e il contenuto in proteina, ma neanche questi chiarirono se l'effetto osservato fosse da attribuirsi ad un particolare isomero piuttosto che all'azione complessiva della miscela (Gaynor et al., 1994; Chouinard et al., 1999).

Un primo contributo in tal senso venne fornito da Griinari et al. (1998), che, somministrando diete opportunamente modulate per favorire l'accumulo di acidi grassi *trans* a livello ruminale, misero in evidenza la concomitanza fra la depressione del contenuto di lipidi del latte e l'aumento della concentrazione di *trans* 10 C18:1 nel grasso stesso.

Il determinismo della sindrome non è stato ancora chiarito in tutti i suoi aspetti, tuttavia numerose evidenze sperimentali suggeriscono che elevate disponibilità mammarie di *trans* 10 18:1 e di *trans* 10, *cis* 12 CLA (e probabilmente di tutti gli acidi grassi con insaturazione *trans* 10) determinano una diminuzione a carico della lipogenesi mammaria, evidenziabile attraverso la diminuzione di acidi grassi da C6 a C16 (Lor e Herbein, 1998; Chouinard et al., 1999; Baumgard et al., 2000; Baumgard et al., 2001).

Sulla base dei risultati di queste ricerche, recentemente, Bauman e Griinari (2001) hanno fornito un'interpretazione del fenomeno della *Milk Fat Depression* che modifica la già nota teoria degli acidi grassi *trans*, individuando proprio negli isomeri *trans* 10 del C18:1 e del C18:2 i responsabili dell'azione depressiva nei confronti della sintesi lipidica in ghiandola mammaria.

Secondo questa teoria, ribattezzata della bioidrogenazione, «la somministrazione di certe diete favorisce le condizioni affinché i pro-

cessi metabolici ruminali vengano alterati e deviati verso la produzione di particolari acidi grassi che hanno un forte potere inibente sulla sintesi dei grassi del latte» (Bauman e Griinari, 2001). Le condizioni affinché questo si verifichi sono essenzialmente due: 1) l'alterazione del metabolismo ruminale a seguito della somministrazione di razioni con un basso rapporto foraggi/concentrati; 2) la presenza di acidi grassi insaturi nella dieta (Bauman e Griinari, 2001).

Anche l'espressione genica dell'SCD e la sua attività enzimatica sembrano essere fortemente influenzate dalla presenza di questi acidi grassi *trans*, come è stato dimostrato nei microsomi di cellule epatiche e nei predipociti di topo (Park et al., 2000; Choi et al., 2000).

Per quanto riguarda la ghiandola mammaria di vacche da latte, è stato osservato che la somministrazione per via abomasale di *trans* 10, *cis* 12 CLA provoca un aumento dei rapporti 14:0/14:1, 16:0/16:1 e 18:0/18:1 indicando una correlata depressione dell'attività della $\Delta 9$ desaturasi (Chouinard et al., 1999; Baumgard et al., 2001).

Il rapporto fra l'enzima SCD e i CLA, pertanto, non si esaurisce con l'aspetto legato alla sintesi dell'acido rumenico.

Da un lato, infatti, l'enzima SCD partecipa in maniera sostanziale alla formazione di CLA nel grasso del latte mediante la conversione dell'acido vaccenico ad acido rumenico. Dall'altro un particolare isomero del CLA, il *trans* 10, *cis* 12 (e probabilmente anche gli altri acidi grassi a 18 atomi di carbonio con un doppio legame in posizione *trans* 10, tutti di esclusiva origine ruminale) condiziona fortemente l'espressione e l'attività dell'enzima SCD (Bretillon et al., 1999; Choi et al., 2000).

In riferimento a quest'ultimo aspetto, tuttavia, bisogna mettere in evidenza un paradosso: la somministrazione a bovine da latte di diete che favoriscono il verificarsi delle condizioni ruminali adatte alla formazione degli acidi grassi *trans* che sono in grado di indurre la depressione della sintesi del grasso del latte, non porterebbe ad alcuna alterazione dei rapporti fra le coppie di acidi grassi interessate dall'azione desaturante dell'enzima SCD, contrariamente a quanto atteso sulla base delle risultanze ottenute dopo l'infusione abomassale di questi acidi grassi *trans* (Bauman e Griinari, 2001).

Questo aspetto è stato evidenziato in un recente lavoro (Piperova et al., 2000) in cui è messa a confronto la produzione quanti-qualitativa di latte in vacche alimentate con una dieta di controllo con quel-

	CONTROLLO	MFD	ES	P
Latte prodotto (kg/d)	27.6	27.6	0.98	
Percentuale di grasso	3.28	1.28	0.09	<0.001
Produzione di grasso (g/d)	945	536	36.8	<0.001
Percentuale di proteina	3.24	3.58	0.06	<0.003
Produzione di proteina (g/d)	930	1.055	52.8	<0.002
ACC*	9.8	3.8	1.1	<0.001
FAS**	13.2	7.4	1.9	<0.001

MFD = dieta che induce la depressione del grasso nel latte.
 * = valori espressi come nmoli [^{14}C]HCO₃ fissate per min⁻¹ per (mg proteina)⁻¹
 ** = valori espressi come nmoli NADPH ossidate per min⁻¹ per (mg proteina)⁻¹

Tab. 2 *Variazioni della produzione quanti-qualitativa di latte e dell'attività degli enzimi coinvolti nella sintesi lipidica (Piperova et al., 2001)*

la di bovine alimentate con una dieta in grado di indurre le condizioni ruminali necessarie all'instaurarsi della sindrome da depressione del grasso (dieta MFD). Dall'esame dei risultati (tab. 2), appare chiaro che la somministrazione della dieta MFD ha causato una drastica riduzione sia del contenuto percentuale sia della quantità totale di grasso del latte, lasciando inalterata la produzione di latte. Questi risultati sono stati confermati anche dalla notevole riduzione dell'attività a livello del tessuto ghiandolare mammario, dei due principali enzimi coinvolti nel processo di sintesi lipidica: l'acetil-CoA-carbossilasi (ACC) e la sintasi degli acidi grassi (FAS) (tab. 2).

L'esame dei rapporti fra le coppie di acidi grassi interessate dall'azione desaturante dell'enzima SCD (tab. 3) evidenzia che, per quanto riguarda l'acido miristico (C14:0) e l'acido palmitico (C16:0), si ha una diminuzione del valore, giustificata, probabilmente, dalla minore disponibilità di questi due acidi grassi a seguito della diminuita capacità neo-sintetica della ghiandola mammaria. È da sottolineare, tuttavia, come la quantità totale nel grasso del latte dei rispettivi acidi grassi monoinsaturi in posizione $\Delta 9$ sia rimasta inalterata (tab. 3).

Per quanto riguarda l'acido stearico non si nota praticamente alcuna variazione, mentre è abbastanza netto l'aumento del rapporto tra acido vaccenico e acido rumenico. In realtà entrambi gli acidi grassi mostrano una netta diminuzione in conseguenza degli effetti della dieta MFD, ma, data la doppia origine dell'acido rumenico (endogena e ruminale), è difficile stabilire a quale delle due fonti sia da imputare la variazione nel rapporto fra i due acidi grassi.

		CONTROLLO	MFD
C _{14:0}	(g/100 acidi grassi)	12	9.3
C _{14:1}	" "	1.0	1.0
C _{16:0}	" "	30.7	21.3
C _{16:1}	" "	2.1	1.9
C _{18:0}	" "	9.7	8.8
C _{18:1}	" "	19.7	19.3
C _{18:1} t11	" "	0.54	0.44
C _{18:2} c9, t11	" "	1.7	0.53
C _{14:0} /C _{14:1}		12	9.3
C _{16:0} /C _{16:1}		14.6	11.2
C _{18:0} /C _{18:1}		0.49	0.45
t11 C _{18:1} /c9,t11 C _{18:2}		1.2	3.2
MFD = dieta che induce la depressione del grasso nel latte.			

Tab. 3 *Contenuto nel grasso del latte e rapporto fra i principali acidi grassi utilizzabili dall'enzima SCD come substrato e i corrispondenti prodotti di desaturazione (Piperova et al., 2001)*

A parte queste considerazioni, sembrerebbe che la somministrazione della dieta MFD non abbia modificato in maniera sostanziale i rapporti fra le coppie di acidi grassi considerati.

Questo inatteso comportamento del tessuto ghiandolare mammario non ha ancora trovato una spiegazione certa, tuttavia un'ipotesi potrebbe essere ricercata nella quantità di isomeri *trans* che giunge alla ghiandola mammaria che, nel caso di somministrazione per via abomasale, sarebbe molto più elevata (10-14 g/d) di quella ipotizzabile a seguito dell'elaborazione ruminale dei lipidi della dieta (Bauman e Griinari, 2001).

D'altro canto è anche probabile che la ghiandola mammaria conservi una notevole capacità di risposta a turbamenti dei processi di sintesi dei lipidi, riuscendo così a sopperire alla diminuzione del contenuto di acidi grassi a corta catena modulando l'attività dell'enzima SCD.

CONCLUSIONI

L'acido rumenico è l'isomero del CLA maggiormente rappresentato nel grasso del latte. Contrariamente a quanto ipotizzato inizialmente, la sua origine è prevalentemente endogena, a seguito della

desaturazione dell'acido vaccenico (un altro acido grasso di provenienza ruminale) operata dall'enzima SCD a livello del tessuto ghiandolare mammario.

L'enzima SCD, infatti, è in grado di desaturare un ampio spettro di acidi grassi, compresi alcuni isomeri *trans* dell'acido octadecenoico come l'acido vaccenico e il *trans* 7.

Esistono numerose evidenze che suggeriscono la possibilità che la variabilità del contenuto di acido rumenico osservata a livello individuale, di razza e di specie possa essere imputata a cause di natura genetica, a prescindere dai notevoli effetti che la dieta può esercitare.

Alcuni particolari isomeri *trans* del C18:1 e del C18:2 (quelli con almeno un doppio legame in posizione *trans* 10), che si formano durante le bioidrogenazioni ruminali, sono in grado di inibire l'espressione del gene e l'attività dell'enzima SCD e di altri importanti enzimi lipogenici come l'acetil-CoA-carbossilasi e la sintasi degli acidi grassi. I meccanismi che consentono l'accumulo ruminale di questi acidi grassi sono al centro della "teoria della bioidrogenazione", recentemente formulata per interpretare il fenomeno della *Milk Fat Depression* delle vacche da latte.

Rimangono tuttavia ancora alcuni nodi da sciogliere in merito al rapporto di questi acidi grassi con l'enzima SCD, poiché l'effetto inibitorio dell'isomero *trans* 10, *cis* 12 CLA è stato evidenziato a seguito di infusione abomasale di questo acido grasso, ma non con la somministrazione di diete favorevoli la depressione della sintesi del latte.

In conclusione, l'individuazione di specifici elementi genetici coinvolti nel determinismo della variabilità osservata costituisce oggi uno dei principali obiettivi della ricerca in questo campo, ma è anche, per la gran parte, un territorio inesplorato. La caratterizzazione del gene SCD in tutte le specie di ruminanti si inserisce sicuramente in tale contesto, così come l'individuazione di polimorfismi genetici a livello di tale gene o di regioni ad esso associate costituirà, in futuro, un prezioso strumento di indagine, al fine di poter applicare in maniera completa ed efficace una strategia (che comprende necessariamente anche interventi di tipo nutrizionistico) finalizzata alla produzione e al mantenimento di alti livelli di CLA nel latte e nella carne dei ruminanti.

ABSTRACT

Endogenous synthesis of CLA in mammary gland

The role of delta9 desaturase enzyme (SCD) in endogenous synthesis of rumenic acid (cis9, trans11 conjugated linoleic acid) is discussed. Results of many researches seems to support that the endogenous CLA is preponderant than CLA originated from rumen fermentation processes. Rumen biohydrogenations, however, represent the main source of the precursor of rumenic acid: the trans11 C18:1, namely the vaccenic acid. In milk fat, a large variability of CLA content among species, breeds and individuals was observed. Several laboratories are studying the genetic basis of this variability, with the aim to characterize the SCD gene in ruminant species and to detect genetic polymorphisms.

BIBLIOGRAFIA

- ADLOF R.O., DUVAL S., EMKEN E.A. (2000): *Biosynthesis of conjugated linoleic acid in humans*, «Lipids», 35, pp. 131-135.
- BARBER M.C., WARD R.J., RICHARDS S.E., SALTER A.M., BUTTERY P.J., VERNON R.G., TRAVERS M.T. (2000): *Ovine adipose tissue monounsaturated fat content is correlated to depot specific expression of the stearoyl-CoA desaturase gene*, «J. Anim. Sci.», 78, pp. 62-68.
- BAUMAN D.E. and GRIINARI J.M. (2001): *Regulation and nutritional manipulation of milk fat: low-fat milk syndrome*, «Livestock Prod. Sci.», 70 (12), pp. 15-29.
- BAUMGARD L.H., CORL B.A., DWYER D.A., SAEBO A., BAUMAN D.E. (2000): *Identification of the conjugated linoleic acid isomer that inhibits milk fat synthesis*, «Am. J. Physiol. Regulatory Integrative & Comparative Physiology», 278, pp. R179-R184.
- BAUMGARD L.H., SANGSTER J.K., BAUMAN D.E. (2001): *Milk fat synthesis in dairy cows is progressively reduced by increasing supplemental amounts of trans-10, cis-12 conjugated linoleic acid (CLA)*, «J. Nutr.», 131, pp. 1764-1769.
- BERNARD L., LEROUX C., HAYES H., GAUTIER M., CHILLIARD Y., MARTIN P. (2001): *Characterization of the caprine stearoyl-CoA desaturase gene and its mRNA showing an unusually long 3'-UTR sequence arising from a single exon*, «Gene», 281, pp. 53-61.
- BICKERSTAFFE R. and ANNISON E.F. (1970): *The desaturase activity of goat and sow mammary tissue*, «Comp. Biochem. Physiol.», 35, pp. 653-665.
- BRETILLON L., CHARDIGNY J.M., GREGOIRE S., BERDEAUX O., SEBEDIO J.L. (1999): *Effects of conjugated linoleic acid isomers on the hepatic microsomal desaturation activities in vitro*, «Lipids», 34 (9), pp. 965-969.
- CAMERON P.J., ROGERS M., OMAN J., MAY S.G., LUNT D.K., SMITH S.B. (1994): *Stearoyl-CoA desaturase activity and mRNA levels are not different in subcutaneous adipose tissue from Angus and American Wagyu steers*, «J. Anim. Sci.», 72, pp. 2624-2628.

- CAMPBELL E.M.G., GALLAGHER D.S., DAVIS S.K., TAYLOR J.F., SMITH S.B. (2001): *Mapping of the bovine steryl-CoA desaturase (SCD) gene to BTA26*, «J. Anim. Sci.», 79, pp. 1954-1955.
- CHILLIARD Y., FERLAY A., MANSBRIDGE R.M., DOREAU M. (2000): *Ruminant milk fat plasticity: nutritional control of saturated, polyunsaturated, trans and conjugated fatty acids*, «Annal. Zootech.», 49, pp. 181-205.
- CHOI Y.J., KIM Y.C., HAN Y.B., PARK Y., PARIZA M.W., NTAMBI J.M. (2000): *The trans-10,cis-12 isomer of conjugated linoleic acid downregulates stearoyl-CoA desaturase 1 gene expression in 3T3-L1 adipocytes*, «J. Nutr.», 130, pp. 1920-1924.
- CHOUINARD P.Y., CORNEAU L., BUTLER W.R., CHILLIARD Y., DRACKLEY J.K., BAUMAN D.E. (2001): *Effect of dietary lipid source on conjugated linoleic acid concentrations in milk fat*, «J. Dairy Sci.», 84, pp. 680-690.
- CHOUINARD P.Y., CORNEAU L., BARBANO D.M., METZGER L.E., BAUMAN D.E. (1999): *Conjugated linoleic acids alter milk fatty acid composition and inhibit milk fat secretion in dairy cows*, «J. Nutr.», 129, pp. 1579-1584.
- CORL B.A., CHOUINARD P.Y., BAUMAN D.E., DWYER D.A., GRIINARI J.M., NURMELA K.V. (1998): *Conjugated linoleic acid in milk fat of dairy cows originates in part by endogenous synthesis from trans-11 octadecenoic acid*, «J. Dairy Sci.», 81(suppl. 1), p. 233.
- CORL B.A., BAUMGARD L.H., DWYER D.A., GRIINARI J.M., PHILLIPS B.S., BAUMAN D.E. (2001): *The role of Delta(9)-desaturase in the production of cis-9, trans-11 CLA*, «J. Nutr. Biochem.», 12, pp. 622-630.
- CORL B.A., LACY S.H., BAUMGARD L.H., DWYER D.A., GRIINARI J.M., PHILLIPS B.S., BAUMAN D.E. (1999): *Examination of the importance of delta9 desaturase and endogenous synthesis of CLA in lactating dairy cows*, «Journal of Animal Science», (Suppl. 1), 77, p. 118.
- DAVIS C.L. and BROWN R.E. (1970): *Low fat milk syndrome*, in PHILLIPSON A.T. (Ed.), *Physiology of digestion and metabolism in ruminant*, Oriel Press, Newcastle upon Tyne, UK, pp. 545-565.
- DEMIREL G., WACHIRA A., SINCLAIR L.A., WILKINSON R., WOOD J.D., ENSER M. (2001): *The effect of feed fatty acids and breed on the conjugated linoleic acid content of the m. semimembranosus of sheep*, in Proc. 1st International Conference on Conjugated Linoleic Acid (CLA), Alesund, Norway, p. 33.
- DHIMAN, T.R., ANAND G.R., SATTER L.D., AND PARIZA M.W. (1999): *Conjugated linoleic acid content of milk from cows fed different diets*, «J. Dairy Sci.», 82, pp. 2146-2156.
- ENJALBERT F., NICOT M.C., BAYOURTHE C., MONCOULON R. (1998): *Duodenal infusion of palmitic, stearic or oleic acids differently affect mammary gland metabolism of fatty acids in lactating dairy cows*, «J. Nutr.», 128, pp. 1525-1532.
- ENOCH H.G., CATALA A., STRITTMATTER P. (1976): *Mechanism of rat liver microsomal stearyl CoA desaturase: studies of the substrate specificity, enzyme substrate interactions and the function of lipid*, «J. Biol. Chem.», 251, pp. 5095-5103.
- GAYNOR P.J., ERDMAN R.A., TETER B.B., SAMPUGNA J., CAPUCO A.V., WALDO

- D.R., HAMOSH M. (1994): *Milk fat yield and composition during abomasal infusion of cis and trans 18:1 fatty acids*, «J. Dairy Sci.», 77, pp. 157-165.
- GRIINARI J.M., DWYER D.A., MCGUIRE M.A., BAUMAN D.E., PALMQUIST D.L., NURMELA K.V.V. (1998): *trans-Octadecenoic acids and milk fat depression in lactating cows*, «J. Dairy Sci.», 81, pp. 1251-1261.
- GRIINARI J.M. and BAUMAN D.E. (1999): *Biosynthesis of conjugated linoleic acid and its incorporation into meat and milk in ruminants*, in M. P. YURAWECZ, M. M. MOSSOBA, J. K. G. KRAMER, M. W. PARIZA, AND G. J. NELSON (eds.), *Advances in Conjugated Linoleic Acid Research*, Champaign, IL, AOCS Press, vol. 1, pp. 180-200.
- GRIINARI J.M., CORI B.A., LACY S.H., CHOUINARD P.Y., NURMELA K.V.V., BAUMAN D.E. (2000): *Conjugated linoleic acid is synthesized endogenously in lactating dairy cows by Delta(9)-desaturase*, «J. Nutr.», 130, pp. 2285-2291.
- HARFOOT C.G. and HAZLEWOOD G.P. (1988): *Lipid metabolism in the rumen*, in P.N. HOBSON (Ed.) *The rumen microbial ecosystem*, Elsevier Applied Science Publishers, London, pp. 285-322.
- HOLMAN R.T. and MAHFOUZ M.M. (1981): *Cis and trans octadecenoic acids as precursor of polyunsaturated acids*, «Progr. Lipid Res.», 20, pp. 151-156.
- JAHREIS G., FRITSCH J., KRAFT J. (1999): *Species-dependent, seasonal, and dietary variation of conjugated linoleic acid in milk*, in M.P. YURAWECZ, M. M. MOSSOBA, J. K. G. KRAMER, M. W. PARIZA, AND G. J. NELSON (eds.), *Advances in Conjugated Linoleic Acid Research*, Champaign, IL, AOCS Press, vol. 1, pp. 215-225.
- JAHREIS G., KRAFT J., TISCHENDORF F., SCHONE F., VON LOEFFELHOLZ C. (2000): *Conjugated linoleic acids: Physiological effects in animal and man with special regard to body composition*, «European J. Lipid Sci. Technol.», 102, pp. 695-703.
- JIANG J., BJOERCK L., FONDEN R., EMANUELSON M. (1996): *Occurrence of conjugated cis-9, trans-11-octadecadienoic acid in bovine milk – effects of feed and dietary regimen*, «J. Dairy Sci.», 79, pp. 438-445.
- KELLY M.L., BERRY J.R., DWYER D.A., GRIINARI J.M., CHOUINARD P.Y., VANAMBURGH M.E., BAUMAN D.E. (1998a): *Dietary fatty acid sources affect conjugated linoleic acid concentrations in milk from lactating dairy cows*, «J. Nutr.», 128, pp. 881-885.
- KELLY M.L., KOLVER E.S., BAUMAN D.E., VANAMBURGH M.E., MULLER L.D. (1998b): *Effect of intake of pasture on concentrations of conjugated linoleic acid in milk of lactating cows*, «J. Dairy Sci.», 81, pp. 1630-1636.
- KEPLER C.R., HIRONS K.P., McNEILL J.J., TOVE S.B. (1966): *Intermediates and products of the biohydrogenation of linoleic acid by Butyrivibrio fibrisolvens*, «Journal of biological chemistry», 241, pp. 1350-1354.
- KINSELLA J.E. (1972): *Stearyl CoA as a precursor of oleic acid and glycerolipids in mammary microsomes from lactating bovine: possible regulatory step in milk triglyceride synthesis*, «Lipids», 7, pp. 349-355.
- KRAMER J.K.G., PARODI P.W., JENSEN R.G., MOSSOBA M.M., YURAWECZ M.P., ADLOF R.O. (1998): *Rumenic acid: a proposed common name for the major conjugated linoleic acid isomer found in natural products*, «Lipids», pp. 33-835.

- LAWLESS F., STANTON C., L'ESCOPE P., DEVERY R., DILLON P., MURPHY J.J. (1999): *Influence of breed on bovine milk cis-9, trans-11-conjugated linoleic acid content*. *Livest.*, «Prod. Sci.», 62, pp. 43-49.
- LAWLESS F., MURPHY J.J., HARRINGTON D., DEVERY R., STANTON C. (1998): *Elevation of conjugated cis-9, trans-11 octadecadienoic acid in bovine milk because of dietary supplementation*, «J. Dairy Sci.», 81, pp. 3259-3267.
- LOOR J.J. and HERBEIN J.H. (1998): *Exogenous conjugated linoleic acid isomers reduce bovine milk fat concentration and yield by inhibiting de novo fatty acid synthesis*, «J. Nutr.», 128, pp. 2411-2419.
- MARTIN G.S., LUNT D.K., BRITAIN K.G., SMITH S.B. (1999): *Postnatal development of steryl-CoA desaturase gene expression and adiposity in bovine subcutaneous adipose tissue*, «J. Anim. Sci.», 77, pp. 630-636.
- MEDRANO J.F., JHONSON A., DE PETERS E.J., ISLAS A. (1999): *Genetic modification of the composition of milk fat: identification of polymorphism within the bovine stearoyl-CoA-desaturase gene*, «J. Dairy Sci.», (suppl. 1), p. 71.
- MILLER C.W., WATERS K.M., NTAMBI J.M. (1997): *Regulation of hepatic stearoyl-CoA desaturase gene 1 by vitamin A*. *Biochem. Biophys.*, «Res. Commun.», 231, pp. 206-210.
- NTAMBI J.M. (1995): *The regulation of steryl-CoA desaturase (SCD)*, «Prog. Lipid Res.», 34, pp. 139-150.
- NTAMBI J.M. (1999): *Regulation of steryl-CoA desaturase by polyunsaturated fatty acids and cholesterol*, «J. lipid Res.», 40, pp. 1549-1558.
- NTAMBI J.M., BUHROW S.A., KAESTNER K.H., CHRISTY R.J., SIBLEY E., KELLY T.J., LANE M.D. (1998): *Differentiation induced gene expression in 3T3-L1 preadipocytes: characterization of differentially expressed gene encoding steryl-CoA desaturase*, «J. Biol. Chem.», 263, pp. 17291-17300.
- OFFER N.W., MARSDEN M., DIXON J., SPEAKE B.K., THACKER F.E. (1999): *Effect of dietary fat supplements on levels of n-3 poly-unsaturated fatty acids, trans acids and conjugated linoleic acid in bovine milk*, «Anim. Sci.», 69 (3), pp. 613-625.
- PALMQUIST D.L., BEAULIEU A.D., BARBANO D.M. (1993): *Fed and animal factors influencing milk fat composition*, «J. Dairy Sci.», 76, pp. 1753-1771.
- PARIZA M.W., PARK Y., KIM S. (1997): *Mechanism of body fat reduction by conjugated linoleic acid*, «FASEB J.», 11, p. A139.
- PARK Y., STORKSON J.M., ALBRIGHT K.J., LIU K.J., PARIZA M.W. (1999): *Evidence that the trans-10,cis-12 isomer of conjugated linoleic acid induces body composition changes in mice*, «Lipids», 34, pp. 235-241.
- PARK Y., STORKSON J.M., NTAMBI J.M., COOK M.E., SIH C.J., PARIZA M.W. (2000): *Inhibition of hepatic stearoyl-CoA desaturase activity by trans-10, cis-12 conjugated linoleic acid and its derivatives*, «Biochim. Biophys. Acta», 1486, pp. 285-292.
- PARODI P.W. (1977): *Conjugated octadecadienoic acids of milk fat*, «J. Dairy Sci.», 60, pp. 1550-1553.
- PARODI P.W. (1994): *Conjugated linoleic acid: an anticarcinogenic fatty acid present in milk fat*, «Aust. J. Dairy Technol.», 49 (2), pp. 93-97.

- PARODI P.W. (1999): *Conjugated linoleic acid and other anticarcinogenic agents of bovine milk fat*, «J. Dairy Sci.», 82, pp. 1339-1349.
- PENNINGTON J.A. and DAVIS C.L. (1975): *Effects of intra ruminal and intra abomasal additions of cod liver oil on milk fat production in the cow*, «J. Dairy Sci.», 58, pp. 49-55.
- PIPEROVA L.S., TETER B.B., BRUCKENTAL I., SAMPUGNA J., MILLS S.E., YURAWECZ M.P., FRITSCHÉ J., KU K., ERDMAN R.A. (2000): *Mammary lipogenic enzyme activity, trans fatty acids and conjugated linoleic acids are altered in lactating dairy cows fed a milk fat-depressing diet*, «J. Nutr.», 130 (10), pp. 2568-2574.
- POLIDORI P., MAGGI G.L., MORETTI V.M., VALFRÈ F. (1993): *Caratteristiche dimensionali e composizionali dei globuli di grasso del latte di bovine di razza Friesiana Italiana e Bruna*, Atti 10° Congr. Naz. ASPA, pp. 241-246.
- POLLARD M.R., GUNSTONE F.D., JAMES A.T., MORRIS L.J. (1980): *Desaturation of positional and geometric isomers of monoenoic fatty acids by microsomal preparations from rat liver*, «Lipids», 15, pp. 306-314.
- SALMINEN I., MUTANEN M., TÜRPEINEN A., GRINARI M., ARO A. (2001): *Bio-synthesis of CLA from trans-monoenes in man*, Proc. 1st International Conference on Conjugated Linoleic Acid (CLA), Alesund, Norway, 15.
- SANTORA J.E., PALMQUIST D.L., ROEHRIG K.L. (2000): *Trans-vaccenic acid is desaturated to conjugated linoleic acid in mice*, «J. Nutr.», 130, pp. 208-215.
- SECCHIARI P., ANTONGIOVANNI M., MELE M., SERRA A., BUCCIONI A., FERRUZZI G., PAOLETTI F. (2001b): *Effect of fat source on C18:1 trans fatty acids and CLA milk content in Italian Friesian dairy cows. Recent progress in animal production science*, 2, Proceedings of the ASPA XIV Congress, pp. 105-107.
- SECCHIARI P., MELE M., SERRA A., BUCCIONI A., ANTONGIOVANNI M., FERRUZZI G., PAOLETTI F., ANDREOTTI L. (2001a): *Conjugated linoleic acid (CLA) content in milk of three dairy sheep breeds*, «Prog. Nutr.», 3 (4), pp. 37-42.
- WARD R.J., TRAVERS M.T., RICHARDS S.E., VERNON R.G., SALTER A.M., BUTTERY P.J., BARBER M.C. (1998): *Stearoyl CoA desaturase mRNA is transcribed from a single gene in the ovine genome*, «Biochim. Biophys. Acta.», 1391, pp. 145-156.
- WHITE S.L., BERTRAND J.A., WADE M.R., WASHBURN S.P., GREEN J.T., JENKINS T.C. (2001): *Comparison of fatty acid content of milk from Jersey and Holstein cows consuming pasture or a total mixed ration*, «J. Dairy Sci.», 84, pp. 2295-2301.
- WOLFF R.L., PRECHT D., NASSER B., EL KEBBAJ M.S. (2001): *Trans and cis octadecenoic acid isomers in the hump and milk from Camelus dromedarius*, «Lipids», 36 (10), pp. 1175-1178.
- YURAWECZ M.P., ROACH J.A.G., SEHAT N., MOSSOBA M.M., KRAMER J.K.G., FRITSCHÉ J., STEINHART H., KU Y. (1998): *A new conjugated linoleic acid isomer, 7 trans, 9 cis-octadecadienoic acid, in cow milk, cheese, beef and human milk and adipose tissue*, «Lipids», 33, pp. 803-809.
- ZHANG L., GE L., PARIMOO S., STENN K., PROUTY S.M. (1999): *Human steroyl-CoA desaturase: alternative transcripts generated from a single gene by usage of tandem polyadenylation sites*, «Biochem. J.», 340, pp. 255-264.

MAURO ANTONGIOVANNI*, ARIANNA BUCCIONI*,
MARCELLO MELE**

STRATEGIE NUTRIZIONALI
PER IL MIGLIORAMENTO DELLA FRAZIONE
LIPIDICA DEGLI ALIMENTI DI ORIGINE ANIMALE

LA FRAZIONE LIPIDICA DEGLI ALIMENTI DI ORIGINE ANIMALE

Gli alimenti di origine animale utilizzati da sempre dall'uomo sono rappresentati dalla carne degli animali selvatici e domestici e, talvolta, dal loro sangue, dal latte prodotto da alcuni mammiferi, per lo più ruminanti, dal pesce e dalle uova. Tutti questi alimenti, con la sola eccezione del sangue che, peraltro, viene utilizzato oggi solo da alcune popolazioni nomadi come i Masai, essendo stato messo al bando per motivi igienici dalle nostre parti (ci ricordiamo con nostalgia il "mallegato" ed i "roventini" di maiale di molti anni fa), hanno una componente lipidica più o meno cospicua.

Fino a poche decine di anni or sono tale frazione lipidica era considerata una componente "ricca" e, quindi, desiderabile dalle popolazioni anche del nostro continente: il maiale doveva essere grasso perché doveva fornire, oltre ai tagli giustamente grassi per la trasformazione, prodotti usati per cucinare quali il lardo e lo strutto; il latte migliore era quello più cremoso, ovvero più ricco di panna. La tendenza a preferire alimenti di origine animale ricchi di grassi era anche dovuta al tipo di vita che i nostri antenati conducevano: il lavoro ed i trasporti non erano in gran parte affidati alle macchine come adesso, ma all'apparato muscolo-scheletrico ed era necessaria una dieta ad elevata concentrazione energetica, essendo il

* *Dipartimento di Scienze Zootecniche, Università degli Studi di Firenze*

** *Dipartimento di Agronomia e Gestione dell'Agro-Ecosistema, Settore di Scienze Zootecniche, Università degli Studi di Pisa*

più delle volte quantitativamente scarsa. L'incidenza delle malattie cardiovascolari conseguenza dell'ipercolesterolemia era sicuramente più bassa, soprattutto perché l'aspettativa media di vita era più breve: si moriva per altre ragioni prima.

Oggi la situazione è completamente rovesciata. La vita media più lunga fa sì che il sistema vascolare sia sottoposto più a lungo all'eventualità di aterogenesi e trombogenesi; l'attività fisica ridotta e, in alcuni casi, quasi totalmente assente, associata ad una alimentazione ipercalorica, porta ad una diffusione sempre maggiore delle persone con problemi di obesità, con tutte le conseguenze del caso sullo stato di salute; la relativa carenza di fibre nella dieta sembra favorire l'insorgenza di tumori del digerente.

Ci siamo posti allora la domanda: il grasso animale fa bene o fa male? È possibile che sia completamente cattivo, tanto da doverlo evitare come la peste, come ci indurrebbe certa pubblicità televisiva, che ci invita a "dire di no al colesterolo"? La domanda è retorica, poiché la risposta è nota da tempo. Che alcuni acidi grassi insaturi siano indispensabili come le vitamine e gli aminoacidi essenziali lo si sa da un bel po'! E allora, *est modus in rebus*. Il confine fra nutrizionalmente utile e nocivo sta nella quantità di grasso assunto con la dieta e nella qualità. Per quanto riguarda la quantità, si deve tenere conto della copertura dei fabbisogni energetici dei singoli individui. Per quanto riguarda, invece, la qualità si tratta di individuare quali sono i componenti la frazione lipidica degli alimenti di origine animale che sono nocivi alla salute umana e quali, invece, i componenti utili, se non indispensabili. Si tratterà a questo punto di migliorare la qualità dei grassi animali cercando di abbattere la componente nociva e di elevare la quota della componente utile, senza tuttavia "snaturare" l'identità del prodotto di origine animale. Ciò si può ottenere attraverso due strade: la via del miglioramento genetico, sia tradizionale che attraverso la bioingegneria, e la via nutrizionale. Da nutrizionisti, ci occuperemo di questa seconda via.

I "BUONI" E I "CATTIVI" COMPONENTI DEL GRASSO ANIMALE

Gli acidi grassi saturi sono generalmente considerati nocivi perché contribuiscono ad incrementare il colesterolo plasmatico totale e le

LDL. Va però detto che ciò non è vero per tutti: in effetti il laurico ($C_{12:0}$), il miristico ($C_{14:0}$) ed il palmitico ($C_{16:0}$) sono i maggiori fattori responsabili delle malattie cardiovascolari (Ulbricht e Southgate, 1991), mentre l'acido stearico ($C_{18:0}$) non sembra avere effetti di nessun genere (Bonanome e Grundy, 1988). Le raccomandazioni delle organizzazioni mondiali che riguardano l'alimentazione e la salute (FAO e OMS) sono per un contributo degli acidi grassi saturi al consumo totale di energia che non superi il 10% (FAO/OMS, 1998).

Gli acidi grassi polinsaturi n-3 (fig. 1), conosciuti anche come $\omega 3$, comprendono l'acido α -linolenico ($C_{18:3}$) ed i suoi due metaboliti eicosopentaenoico (EPA) e docosoesaenoico (DHA). Studi recenti hanno dimostrato che i principali effetti sulla salute umana degli n-3 presenti nella dieta sono quelli di fattori di prevenzione nei riguardi della ipertensione, di disordini del sistema immunitario, disordini neurologici e stati depressivi. Inoltre degli esperimenti condotti su pazienti a rischio di malattie cardiovascolari hanno chiaramente dimostrato che la somministrazione orale di EPA e DHA deprime il colesterolo plasmatico nella sua forma ossidata, il colesterolo LDL e l'aggregazione piastrinica. In più, gli n-3 sono coinvolti nei meccanismi di regolazione strutturale delle cellule, in particolare del sistema nervoso centrale e periferico. Per finire, il DHA è essenziale per il corretto sviluppo neurale del feto e del neonato (Williams, 2000; Cocchi e Turchetto, 1999).

Il secondo gruppo di acidi grassi polinsaturi, gli n-6 (fig. 2), comprende l'acido linoleico ($C_{18:2}$) e l'arachidonico ($C_{20:4}$), che sono qualitativamente e quantitativamente i principali acidi. Esiste una sorta di antagonismo fra i componenti dei due gruppi: elevati livelli di linoleico interferiscono a livello metabolico con la formazione di EPA e DHA a partire dal loro precursore acido linolenico, riducendo così la quantità di n-3 utili. Da qui l'importanza del rapporto n-6/n-3 nella dieta (Williams, 2000).

Ultimo gruppo è quello rappresentato dagli acidi grassi nella forma *trans*. I processi industriali di idrogenazione dei grassi, entrati nell'uso per limitare i processi di ossidazione, inducono cambiamenti strutturali dei doppi legami degli acidi grassi insaturi dalla forma naturale *cis* a quella *trans* (Fritsche e Steinhart, 1998; Innis e King, 1999). Anche i processi di semplice deodorizzazione possono dar seguito alla formazione di acidi *trans*: è stato dimostrato che più

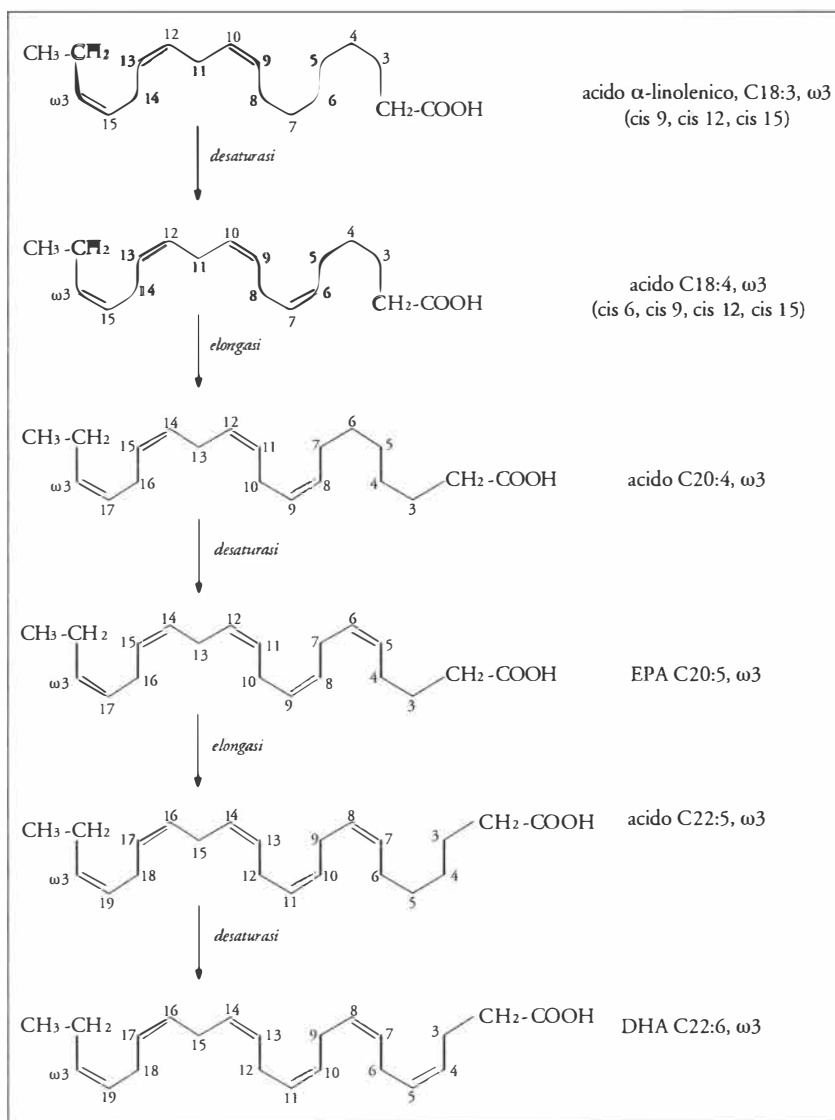


Fig. 1 *Genesi degli acidi grassi polinsaturi n-3*

del 40% dell'acido α -linolenico può essere convertito nelle sue forme *trans* a seguito di tali processi (Pedersen, 2001). E la presenza di acidi grassi *trans* negli alimenti che hanno subito processi industria-

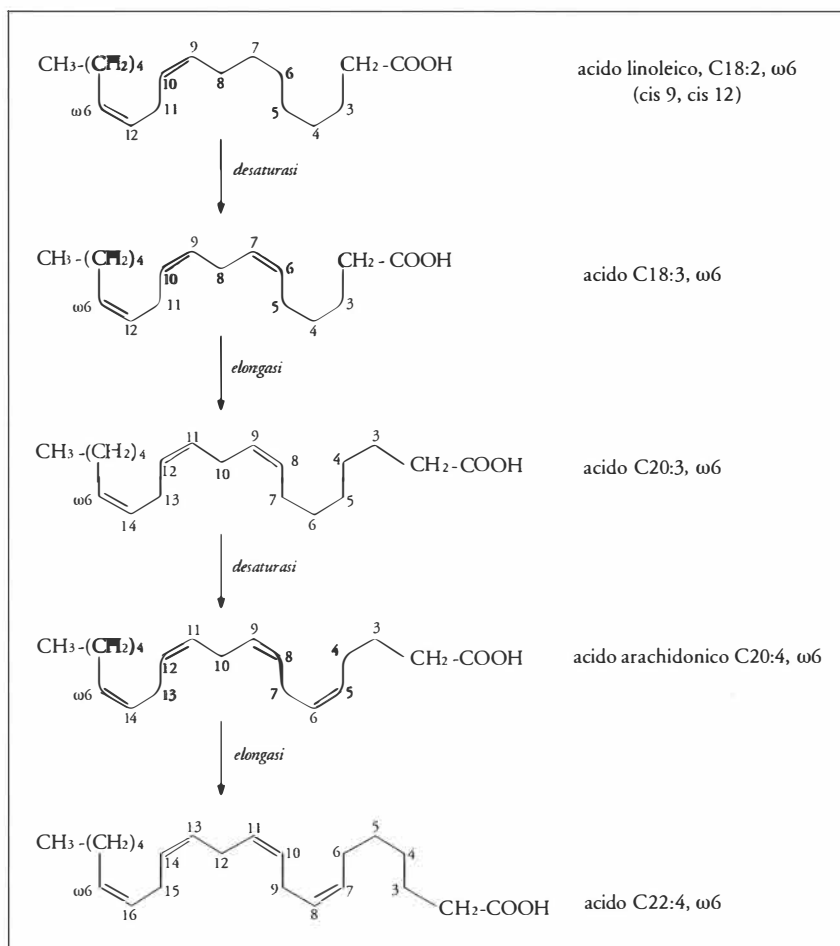


Fig. 2 *Genesi degli acidi grassi polinsaturi n-6*

li aumenta il rischio di malattie cardiovascolari perché essi interferiscono nel metabolismo della desaturazione ed elongazione degli acidi polinsaturi essenziali n-3 ed n-6, favorendo il colesterolo LDL (Williams, 2000; Vermunt et al., 2001). Una classe speciale di acidi grassi *trans*, gli isomeri dell'acido linoleico coniugato (CLA), sono naturalmente presenti nel latte, nella carne e nei derivati dal latte dei ruminanti come risultato della bioidrogenazione dei polinsaturi nel rumine (fig. 3) e della Δ^9 desaturazione nei tessuti, con particolare

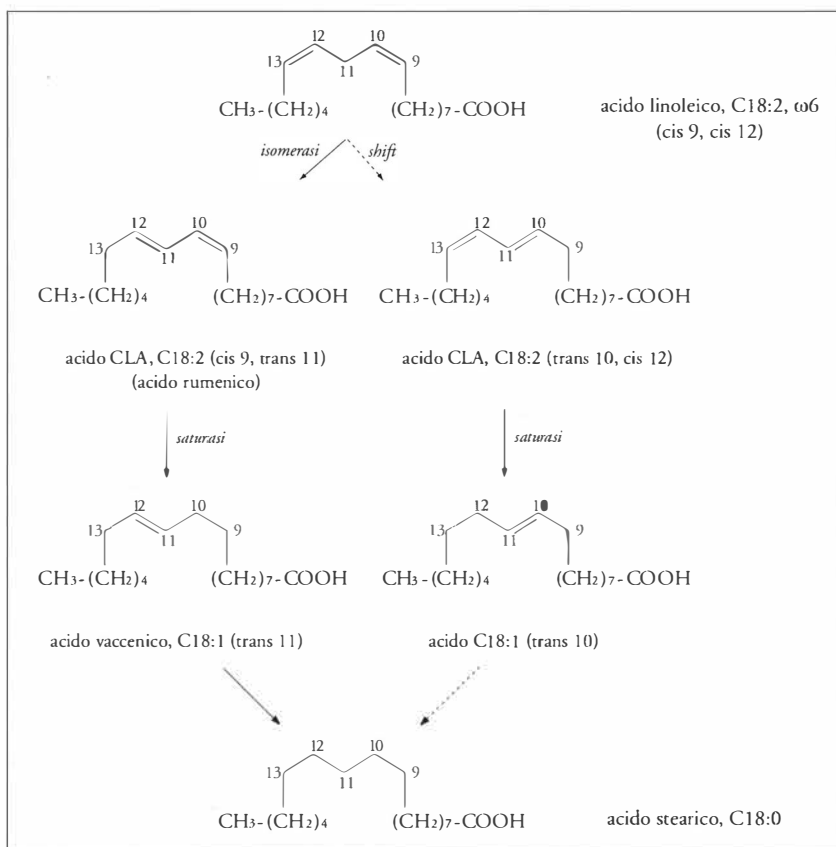


Fig. 3 Bioidrogenazione ruminale dell'acido linoleico verso i trans 11, con shift verso i trans 10

intensità nel parenchima mammario (fig. 4). Il principale isomero CLA naturale del rumine, denominato per questo acido rumenico, è il C_{18:2} *cis* 9 *trans* 11 ed è considerato altamente benefico per la salute umana (Banni e Martin, 1998), essendogli state riconosciute le seguenti caratteristiche: a) è un potente fattore anticarcinogenico, molto probabilmente perché agisce come antagonista dei recettori di membrana PPAR che alterano la trascrizione nucleare per le proteine coinvolte nel metabolismo lipidico (Belury et al., 1997); b) è un fattore importante nella regolazione dei depositi adiposi corporei, probabilmente perché inibisce l'azione delle lipasi lipoproteiche con

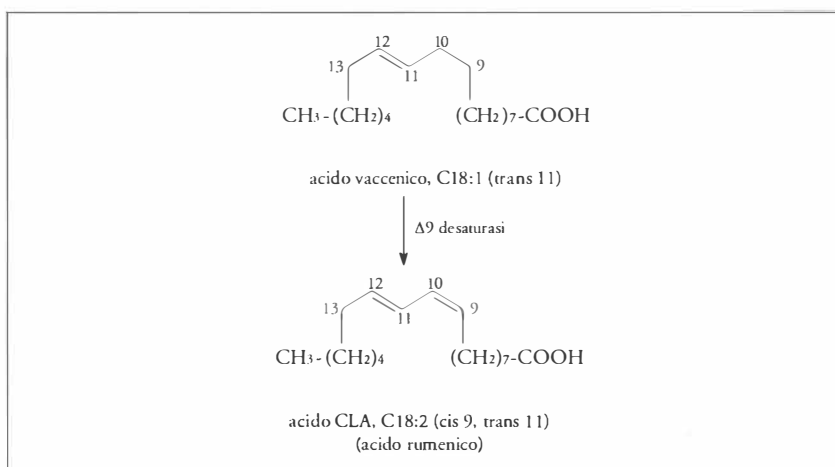


Fig. 4 Desaturazione nel rumine e nei tessuti dell'acido vaccenico, precursore del CLA acido rumenico

la conseguente stimolazione dell'ossidazione degli acidi grassi polinsaturi (Chin et al., 1994); c) è anche un fattore di prevenzione del diabete; d) è molto probabilmente un fattore di prevenzione anti-aterogenesi. In effetti questa funzione è ancora controversa perché alcune prove sperimentali sono contraddittorie (Nicolosi e Laitinen, 1996; Munday et al., 1999). Con tutta probabilità l'indecisione è dovuta a problemi analitici che ancora fanno fare una certa confusione nella identificazione degli isomeri. Ma Griinari et al. (1996; 1998) sottolineano il fatto che l'acido rumenico è stato ampiamente riconosciuto come componente altamente benefico per la salute umana e raccomandano: «l'arricchimento della concentrazione di CLA nel latte e nella carne è diventato un importante obiettivo nella ricerca nel campo della nutrizione animale». È un invito che abbiamo cercato di raccogliere. Fino dagli anni '70, come ci ricordano Bauman e Griinari (2001), l'acido vaccenico ($C_{18:1}$ trans 11) è stato individuato come l'acido trans predominante nel rumine. Molto recentemente le tecniche analitiche più sofisticate ci hanno aperto un mondo di acidi 18:1 trans, dal trans 4 al trans 16 che si formano nel rumine durante i processi di bioidrogenazione in conseguenza dell'arricchimento della dieta con oli vegetali o marini, maggiormente se povera di fibra. Purtroppo, si verifica il fatto che maggiore è la

concentrazione di *trans* nel rumine, minore è la concentrazione di grasso di latte, instaurandosi quella sindrome che gli anglosassoni identificano con la sigla MFD (*milk fat depression*). Ma non tutti gli isomeri sono uguali sotto questo aspetto: Selner e Schultz (1980) osservarono che l'aggiunta di cospicue quantità di acido oleico nella dieta portava anche a triplicare le quantità di acidi 18:1 *trans* nel latte, senza che si verificasse la MFD. Da studi successivi di Griinari et al. (1998) è emerso chiaramente che laddove si manifesta la MFD si nota anche un chiaro aumento del 18:1 *trans* 10, che si origina con tutta probabilità attraverso uno "shift" della bioidrogenazione ruminale dell'acido linoleico, così come ipotizzato da Griinari e Bauman (1996), secondo lo schema della figura 3. La presenza del 18:1 *trans* 10 nel grasso del latte è la prova che nel rumine è avvenuta l'alterazione dello shift della bioidrogenazione del linoleico. Ciò si verifica, ad esempio, quando si impiegano oli di pesce, ricchi di acidi polinsaturi, come integratori energetici della dieta e, comunque, ogni qualvolta si è in presenza di alterate condizioni di fermentazione e grassi ricchi in PUFA. Con la MFD si osserva anche una marcata diminuzione delle sintesi *de novo* di acidi a catena corta e media, insieme ad un aumento della adipogenesi corporea. Non così, e questo è per il momento un paradosso, negli animali in accrescimento, nei quali invece la tendenza all'adipogenesi diminuisce (Bauman e Griinari, 2001).

COME È CAMBIATA LA DIETA DELL'UOMO DAL PALEOLITICO AD OGGI

Se il fenotipo è il risultato dell'interazione fra genotipo ed ambiente e se, fra i fattori ambientali, la qualità dell'alimentazione è uno dei predominanti, l'uomo e la sua salute risentono grandemente della qualità della sua dieta, legata alle tradizioni, tanto da essere considerata un importante fattore culturale. È oramai arcinoto che la "dieta mediterranea" ha i suoi vantaggi in termini di prevenzione di malattie degli apparati circolatorio e digerente rispetto a diete di altre regioni ed è risaputo anche che gli individui appartenenti a popolazioni che si alimentano prevalentemente di pesce, come gli eschimesi o i giapponesi, sono meno soggetti di altri alle malattie cardiovascolari. I pastori nomadi Masai, per fare un altro esempio,

ACIDO GRASSO	FORMULA	PALEOLITICO	ERA FAST-FOOD
Linoleico (LA)	C _{18:2} n-6	8.8	22.5
Arachidonico (AA)	C _{20:4} n-6	1.8	0.6
Docosotetraenoico (DTA)	C _{22:4} n-6	0.1	-
Totale n-6		10.7	23.1
Linolenico (LNA)	C _{18:3} n-3	4.8	1.2
Eicosopentaenoico (EPA)	C _{20:5} n-3	0.4	0.05
Docosopentaenoico (DPA)	C _{22:5} n-3	0.4	0.05
Docosoesaenoico (DHA)	C _{22:6} n-3	0.3	0.1
Totale n-3		5.9	1.4
Rapporto n-6 / n-3		1.8	16.5

Tab. 1 *Consumo stimato degli acidi n-6 ed n-3 da parte dell'uomo del Paleolitico rapportato a quello dell'uomo moderno (gld)*

la cui dieta è basata sul consumo di latte, hanno tassi bassissimi di colesterolo ematico. Se l'alimentazione è cultura, la sua evoluzione deve essere legata ad eventi storici che l'hanno influenzata nel tempo. Secondo un vecchio adagio popolare, “noi siamo quello che mangiamo”. Gli studiosi sono concordi nell'individuare nell'evoluzione storico-culturale, e quindi alimentare, dell'*homo sapiens* almeno due eventi principali: il primo è dato dalla “rivoluzione agricola”, circa 10.000 anni fa, quando i nostri antenati da cacciatori e raccoglitori nomadi si trasformarono in agricoltori ed allevatori residenti; il secondo evento è rappresentato dalla “rivoluzione industriale”, circa due secoli or sono, quando molti si trasferirono dalle campagne verso le zone ad alta concentrazione industriale. Ma è nostra opinione che non sia trascurabile un terzo evento, che potremmo definire la “rivoluzione del fast food” del secolo ventesimo. Insieme a questi cambiamenti, la qualità della dieta umana è cambiata in maniera drammatica, tendendo alla “globalizzazione”, e non certo in meglio, mentre il profilo genetico umano è rimasto praticamente invariato nel corso degli ultimi 40.000 anni. Secondo Simopoulos (1999), la dieta del tardo Paleolitico era caratterizzata da un minor contenuto di grassi e, in particolare, da una minor percentuale di acidi grassi saturi rispetto alla dieta dell'uomo occidentale moderno standard. A quei tempi, l'apporto degli n-6 ed n-3 era bilanciato secondo un rapporto di circa 1,8 con un contributo dei grassi al consumo totale di energia della dieta di circa il 10-15% (tab. 1). Tale contributo è salito al 20-25% con la rivoluzione in-

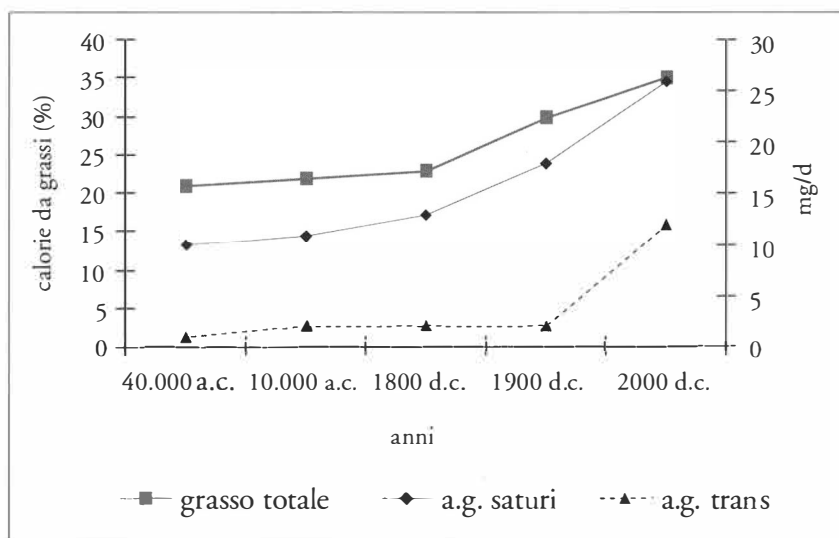


Fig. 5 *Evoluzione del contributo dei grassi all'apporto totale dell'energia della dieta*

dustriale per attestarsi in media vicino al 40% nell'era del fast-food (fig. 5). La frazione degli acidi grassi saturi, da considerare genericamente nociva, che era nel Paleolitico circa il 40% del grasso totale, l'8% del consumo totale di energia, è arrivata oggi a superare il 60%, più del 20% del consumo totale di energia, soprattutto in conseguenza dei trattamenti industriali di idrogenazione. Il nutrizionalmente importante rapporto n-6/n-3 è passato da circa 1,8/1, valore peraltro rimasto invariato per oltre 10.000 anni, a 10/1 fino a 20/1 dei giorni nostri! (fig. 6). Anche se in alcune aree del mondo occidentale la situazione non è così drammatica, come ad esempio nei paesi dell'area mediterranea, tali abitudini alimentari errate devono cambiare e non è affatto detto che lo si debba fare a scapito degli alimenti di origine animale: eschimesi e Masai docenti!

EFFETTI DELLA DIETA SULLA COMPOSIZIONE DEL LATTE E DELLA CARNE DEI RUMINANTI

Esistono moltissimi studi, tutti recenti o recentissimi, sull'influenza della dieta sulla composizione della frazione acidica del grasso del

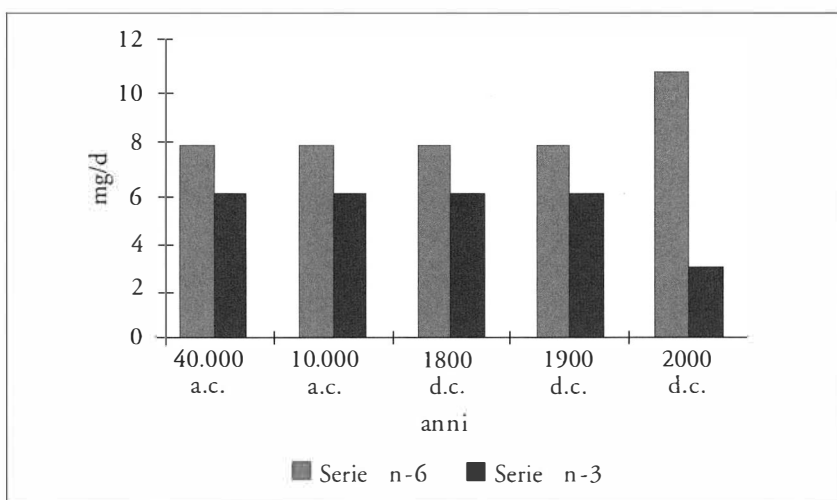


Fig. 6 *Evoluzione del rapporto fra n-3 e n-6 nella dieta dell'uomo*

latte. Chilliard et al. (2001) hanno recentemente evidenziato che è possibile ed è relativamente agevole, rapido ed efficace influire sulla qualità del grasso del latte agendo sulla composizione della dieta a livello aziendale in maniera, ovviamente, reversibile. Quando diciamo “qualità del grasso del latte” intendiamo riferirci in particolare a:

- le caratteristiche organolettiche, dovute in gran parte alla presenza degli acidi grassi liberi a catena corta;
- il punto di fusione e la consistenza (spalmabilità) del burro, ancora dovuti alla relativamente elevata presenza di acidi grassi saturi a catena corta ed insaturi;
- gli effetti nutrizionali sulla salute umana (ipocolesterolemici, antiaterogenici, anticarcinogenici, antiobesità).

Per quanto riguarda la carne, invece, il riferimento è alla composizione acidica delle frazioni polare (lipidi costitutivi della membrana cellulare) e apolare (lipidi di riserva) del grasso intramuscolare, con particolare riferimento, anche in questo caso, alla presenza di fattori che svolgono un ruolo nutrizionalmente importante per la salute umana.

Cominciamo a considerare l'effetto della natura dei foraggi. Su questo argomento gli studi sono pochi perché fino ad ora si sono condotte indagini sull'influenza dell'aggiunta di grassi animali ed

TIPO DI FORAGGIO	PASCOLO DI PIANURA	PASCOLO DI MONTAGNA	INSILATO DI ERBA	INSILATO DI MAIS
% nella razione	100	100	63	68
C _{4:0}	35	48	32	34
C _{6:0} + C _{8:0}	32	31	32	41
C _{10:0} + C _{12:0}	58	45	73	82
C _{14:0}	99	96	125	124
C _{16:0}	258	249	356	327
C _{16:1}	17	18	16	22
C _{18:0}	114	108	99	81
C _{18:1} t ₁₀ +t ₁₁	21.1	36.6		7.3
C _{18:1}	279	283	209	195
CLA	8.7	16.1	5.3	4.7
C _{18:2}	26	45	15	22
C _{18:3}	14	15	5	3

Tab. 2 *Confronto fra composizioni di grasso del latte ottenuto con foraggi e diete diverse (g/kg di grasso) (adattata da: Kelly et al., 1998; Chilliard et al., 2001; Collomb et al., 2001; Onetti et al., 2001)*

oli marini o vegetali alle diete classiche formate da foraggi e concentrati.

I foraggi freschi delle nostre regioni temperate contengono circa l'1-3% di acidi grassi, massimamente in primavera ed in autunno. Più della metà (55-65%) di tali acidi sono rappresentati dall'acido α -linolenico. Nei foraggi tropicali la percentuale di linolenico scende al 15-40%. La composizione acidica delle essenze foraggere, in ogni caso, è largamente influenzata oltre che dalla specie di appartenenza anche dalla tipologia e dalla frequenza di utilizzo del cotico erboso (Dewhurst et al., 2001).

È possibile influire sulla qualità del grasso del latte agendo sulla composizione della dieta a livello aziendale abbastanza facilmente, rapidamente ed in maniera efficiente e reversibile. In secondo luogo (tab. 2), è evidente che c'è un'enorme differenza fra l'alimentazione basata sul 100% di foraggio e quella che utilizza i concentrati. In terzo luogo, la natura dei foraggi costituisce un fattore critico: basti vedere la differenza fra il pascolo di montagna ed il pascolo di pianura. Il pascolo di montagna è il migliore per quanto riguarda il contenuto di acido butirrico (C_{4:0}): le caratteristiche organolettiche sono migliori ed il burro risulta più facilmente spalmabile. Anche per quanto riguarda l'acido laurico

(C_{12:0}), considerato uno degli acidi a media nocività per la salute umana, il burro ottenuto da bovine alimentate esclusivamente al pascolo appare il migliore.

La tabella 2, elaborata dai citati Chilliard et al., 2001 e da noi modificata, è oltremodo eloquente.

Viceversa, se osserviamo i dati relativi all'acido miristico (C_{14:0}), il peggiore di tutti in fatto di nocività (Ulbricht e Southgate, 1991), non c'è grande differenza fra pascolo di pianura e pascolo di montagna, anche se rimane la tendenza ad una minor concentrazione nel burro di montagna. Tuttavia, in ambedue i casi, laurico e miristico, non c'è confronto fra pascolo ed alimentazione mista di foraggi più concentrati. Per l'acido palmitico (C_{16:0}) si possono ripetere le stesse osservazioni testé fatte per il miristico, con l'attenuante che esso è meno pericoloso di quest'ultimo. La relativa innocuità dell'acido stearico (C_{18:0}) ci fa guardare con tranquillità quella maggiore presenza nel burro delle vacche a solo foraggio, tanto che il fatto in sé non merita commenti. L'acido oleico (C_{18:1}), da considerare fra i fattori "buoni" per la salute umana, essendo un acido grasso insaturo nella forma *cis*, è presente in maggiori quantità nel grasso del latte delle bovine alimentate con il 100% di pascolo, non considerando come rilevante la differenza fra foraggio fresco da pascolo e foraggio conservato insilato. D'altra parte in questa breve rassegna è d'uopo limitarci a delle osservazioni e commenti "macroscopici" che, pur nella loro semplificazione, mantengono validità scientifica. Per quanto riguarda la concentrazione degli acidi linoleico (C_{18:2}) e linolenico (C_{18:3}), i valori riportati in tabella si commentano da soli: il linoleico, presente in quantità circa doppie nel grasso del latte di vacche alimentate a pascolo di montagna, è il precursore dell'acido rumenico, il principale CLA del ruminante (fig. 3) ed il linolenico, da 4 a 5 volte più concentrato nel latte prodotto da vacche a solo foraggio fresco, è il precursore degli n-3 prodotti nel parenchima mammario (fig. 1). Ed i CLA con gli n-3 sono annoverati fra i componenti buoni, desiderabili, del grasso animale. In ogni modo, va sottolineato il fatto che le quantità dei polinsaturi C_{18:2} e C_{18:3} sono sempre abbastanza esigue (1-4% contro il 28% dell'oleico, l'11% dello stearico o il 25% del palmitico), a dimostrazione del fatto che all'interno del ruminante si svolge una intensa attività microbica di saturazione per idrogenazione.

Nella tabella 2 si intravede la superiorità del foraggio verde sugli insilati nei riguardi della salubrità del grasso del latte prodotto. Chilliard et al. (2001) ipotizzano che ciò sia dovuto a modificazioni che avvengono negli insilati durante il processo fermentativo per fermentazioni indesiderate.

L'insilato di mais è comunque un foraggio particolare e diverso dagli insilati di altre essenze, soprattutto perché risulta più ricco di linoleico. Ciò è dovuto al fatto che la granella, presente normalmente intorno al 30-40% nell'insilato, contiene già di per sé circa il 60% di questo acido. Quando il silomais supera il 60% della sostanza secca della dieta, i dati sperimentali riportati in letteratura dimostrano che sono favoriti gli acidi grassi da C_6 a C_{12} ed il linoleico a spese dello stearico e del linolenico. Un'ultima cosa a proposito degli insilati di mais: nel grasso del latte degli animali alimentati con diete con più del 60% di silomais, l'acido vaccenico ($C_{18:1}$ *trans* 11) ed i CLA, il principale dei quali è l'acido rumenico ($C_{18:2}$ *cis* 9 *trans* 11), sono presenti in piccole quantità, meno della metà di quanto si abbia nel latte di animali alimentati con altri foraggi verdi.

Per quanto attiene alla fienagione come tecnica di conservazione, invece, la letteratura riporta che l'uso dei fieni deprime la concentrazione degli acidi grassi a lunga catena in generale e del linolenico in particolare, con conseguente compromissione della quantità di n-3 nel latte prodotto.

Anche per quanto riguarda il grasso intramuscolare, l'effetto dell'alimentazione al pascolo e, quindi, dell'inclusione di foraggio fresco determina un sostanziale cambiamento della composizione acida sia a livello della frazione a media catena sia relativamente agli acidi grassi a catena più lunga (tab. 3).

In particolare il contenuto di acido palmitico, di cui sono noti gli effetti aterogenici, viene diminuito, mentre aumenta notevolmente quello di CLA (più del doppio) e di acido α -linolenico. Come conseguenza il rapporto fra gli acidi grassi n-6 e n-3 si sposta a favore di quest'ultimi raggiungendo un valore prossimo a due che costituisce, come evidenziato in precedenza, un livello ottimale per i fabbisogni nutrizionali dell'uomo.

In particolare, in letteratura è riportato che manzi frisoni alimentati con razioni a base di foraggio fresco (Geay et al., 2001) presentano un maggior contenuto in PUFA n-3 nel tessuto adiposo

ACIDO GRASSO	INSILATO D'ERBA	PASCOLO	FIENO + CONCENTRATO
% nella razione	60	100	10/90
C _{10:0}	0.25	0.12	0.13
C _{12:0}	0.09	0.09	0.08
C _{14:0}	2.76	2.71	2.34
C _{14:1}	0.63	0.66	0.60
C _{15:0}	0.58	0.66	0.59
C _{16:0}	26.55	22.84	27.4
C _{16:1}	3.73	3.88	3.98
C _{17:0}	1.20	1.20	1.22
C _{17:1}	0.97	1.05	1.19
C _{18:0}	16.04	14.72	15.95
C _{18:1}	39.47	40.58	38.64
C _{18:2}	2.60	2.11	2.96
CLA	0.47	1.08	0.37
C _{18:3}	0.71	1.13	0.72
C _{20:0}	0.05	0.09	0.23
C _{20:1}	0.07	0.12	0.04
C _{20:2}	0.09	0.34	0.07
C _{20:5}	0.20	0.23	0.12
C _{20:3}	0.14	0.38	0.09
C _{20:4}	0.14	0.32	0.10
n-6/n-3	3.91	2.33	4.15
PUFA/SFA	0.09	0.13	0.09

Tab. 3 *Effetto della dieta sulla composizione acidica del grasso intramuscolare di vitelloni da carne (g/100g) (Adattata da French et al., 2000)*

(C_{18:3} n-3, LNA e C_{20:5} EPA) rispetto a quelli alimentati con diete contenenti fieno e cereali. L'assorbimento preferenziale di acido linolenico e dei suoi metaboliti così importanti per la salute umana (C_{20:4} n-3, C_{20:5} n-3, C_{22:5} n-3 e C_{22:6} n-3) è stato anche confermato da Enser et al. (1999) attraverso prove di alimentazione su vitelli ed agnelli da carne alimentati con foraggio fresco. Al contrario, diete a base di cereali portano ad un aumento di PUFA n-6 nel grasso di deposito. I lipidi neutri, per lo più trigliceridi, presenti nel tessuto muscolare incorporano preferenzialmente PUFA come il C_{18:2} n-6 ed il C_{18:3} n-3 mentre quelli polari, come i fosfolipidi, sono meno selettivi e possono presentare anche acidi grassi insaturi come il C_{20:3}, C_{20:4} ed il C_{22:5}. Anche nella carne di agnello si assiste ad un incremento in acido linoleico e linolenico con diete a base di foraggio fresco (Bas et al., 2001).

In conclusione di questa parte relativa ai foraggi, possiamo osservare che, se si deve guardare alla qualità del latte e della carne prodotti

e non solo alla quantità, potendo disporre nelle stagioni adeguate, è irrinunciabile ricorrere all'uso di foraggi freschi, meglio se di montagna, con il minimo apporto di concentrati. Si ottiene un latte il cui grasso è più ricco di acidi grassi a catena cortissima ($< C_{10}$), più povero di acidi aterogenici e trombogenici (C_{12} , C_{14} , C_{16}), più ricco di insaturi, di CLA e di n-3. Le stesse considerazioni valgono per la qualità della carne.

EFFETTO DELL'AGGIUNTA DI GRASSI NELLA DIETA

I grassi animali

I grassi animali sono stati usati largamente nella alimentazione un po' di tutte le categorie di animali in produzione zootecnica e, quindi, anche delle vacche da latte le quali, specie nel periodo critico del cosiddetto "picco" di lattazione, hanno elevati fabbisogni di energia. Recentemente, con il noto problema della BSE, l'impiego dei grassi animali va evitato, ma nonostante ciò, vale la pena di riportare in questa sede, per lo meno per sommi capi, quali sono gli effetti della somministrazione del grasso animale sulla produzione quali-quantitativa del latte, attenendoci alla magistrale già citata rassegna di Chilliard et al. (2001). Intanto, va detto che il grasso animale più largamente impiegato è stato il grasso bovino. Tale grasso è particolarmente ricco di acido palmitico (23-27%), di acido stearico (14-29%) e di oleico (36-50%). Il grasso bovino può essere somministrato sia come tale, ovvero non protetto nei riguardi delle bioidrogenazioni ruminali, oppure emulsionato ed incapsulato in uno strato di proteine denaturate alla formaldeide per renderlo protetto. La protezione, comunque, non è mai completa, giungendo al massimo intorno al 65%.

Se si somministra il grasso non protetto in quantità superiore al 7% sulla sostanza secca si assiste ad una caduta della concentrazione del grasso nel latte (Palmquist e Jenkins, 1980), le cui cause sono da ricercarsi in un'alterazione dell'ambiente ruminale e, secondo alcuni autori, nella formazione di specifici acidi grassi in grado di influenzare in maniera negativa l'espressione e/o l'attività degli enzimi lipogenici a livello del tessuto mammario (Bauman e Griinari, 2001). La diminuzione del grasso del latte, pertanto, dipenderebbe

da una marcata riduzione della sintesi *de novo* degli acidi a catena corta e media ($C_6 - C_{16}$) e del linoleico, mentre aumenterebbe l'acido oleico. Quest'ultimo aspetto è legato all'aumento dell'attività della $\Delta 9$ desaturasi, in quanto l'acido oleico dovrebbe sostituire gli acidi grassi a corta catena in posizione *sn-3* sul trigliceride e mantenere costante la fluidità del grasso. Il palmitico non ne risente.

Se si somministra il grasso rumino-protetto (emulsionato ed incapsulato in una matrice di proteine denaturate con formaldeide), la risposta è diversa. Infatti si registra un aumento della concentrazione di grasso insieme ad un aumento della quantità di latte prodotto. Le variazioni qualitative riguardano gli acidi a catena corta e media ($C_6 - C_{16}$), che diminuiscono e gli acidi a 18 atomi di carbonio stearico ed oleico, che invece aumentano. L'oleico proviene parzialmente dall'assorbimento diretto e parzialmente dall'attività della $\Delta 9$ desaturasi sull'acido stearico, come è dimostrato da studi in cui si è sperimentata l'integrazione con stearico. Gli acidi linoleico e linolenico sembrano non risentire della grassatura. In conclusione, si è osservato che la somministrazione di grasso bovino protetto ha effetti paragonabili a quelli conseguenti alla mobilitazione delle riserve adipose corporee.

Gli oli di pesce sono ricchi di acidi grassi polinsaturi a lunga catena (20-22 atomi di carbonio), fra i quali spiccano, per quantità ed importanza, i già ricordati n-3 eicosopentaenoico (EPA) e docosoesaenoico (DHA). La composizione degli oli di pesce è, comunque, estremamente variabile: ad esempio, l'EPA può oscillare dal 4 al 32% ed il DHA dal 2 al 25% (Moffat e McGill, 1993). Anche se non si hanno risultati certi, è ipotizzabile che avvenga una incompleta idrogenazione di questi due acidi nel rumine, preferibilmente a carico dell'EPA, perdendosene così una buona parte. Infatti, i dati sperimentali sull'efficienza di trasferimento dalla dieta al latte degli n-3 sono abbastanza deludenti: intorno al 2% per l'EPA ed al 4% per il DHA. Tali risultati, tuttavia, sono da imputarsi, con ogni probabilità, all'inclusione preferenziale di questi acidi grassi nei fosfolipidi che nel grasso del latte sono contenuti in quantità inferiori all'1%. Si sono ritrovati molti degli intermedi precursori dell'EPA nello schema della figura 1. In generale, l'integrazione alimentare con oli di esce fa diminuire sensibilmente la quantità di grasso nel latte. Si sono fatte alcune ipotesi per spiegare tale effetto depressivo.

La più accreditata è che l'EPA, presente in notevoli quantità negli oli di pesce, inibisca l'espressione del gene $\Delta 9$ desaturasi nella mammella, insieme ad altri meccanismi come l'inibizione dell'mRNA della lipasi che agisce sulle lipoproteine mammarie. I risultati sperimentali citati da Chilliard et al. (2001) accreditano un $r^2 = 0.75$ per la correlazione fra quantità di EPA somministrata e intensità della depressione della concentrazione di grasso nel latte. In particolare, gli acidi a catena medio-corta (C_4 fino a C_{14}) vengono depressi leggermente, mentre forte è la diminuzione di concentrazione del palmitico, dello stearico e dell'oleico. Viene molto esaltata la presenza di vaccenico (*trans* 11 $C_{18:1}$), molto meno quella degli altri isomeri *trans* 6, *trans* 9, *trans* 10. Anche i CLA subiscono un'impennata, passando dallo 0.2 – 0.6% dei controlli all'1.5 – 2.7% dei trattati. L'isomero CLA più rappresentato è, al solito, il *cis* 9, *trans* 11, ovvero l'acido rumenico, ma si riscontrano discrete quantità anche di *trans* 10, *cis* 12 CLA. Bisogna, però, trattare con cautela questo particolare aspetto. Infatti, i CLA che riuscissero a sfuggire dal rumine in quantità eccessiva potrebbero compromettere seriamente la quantità di latte prodotto. Studi di Chouinard et al. (1999) hanno chiaramente dimostrato che, con l'infusione abomasale di 50-100 g/d di un prodotto commerciale a base di CLA, si assiste ad una riduzione di più del 50% della quantità sia di latte prodotto che della concentrazione di grasso nel latte. Tale effetto, tuttavia, è da imputarsi, come recentemente dimostrato, all'isomero *trans* 10, *cis* 12 CLA di cui le miscele commerciali sono ricche (Baumgard et al., 2000).

Nel caso della grassatura di diete per vitelloni da carne con oli di pesce, è stata notata un'incorporazione preferenziale di PUFA della serie n-3 (+13% e +2% rispettivamente per $C_{20:5}$ e $C_{22:6}$) nei fosfolipidi muscolari sia nel caso di oli non protetti sia a seguito di protezione con formaldeide (Ashes et al., 1992), ma non comporta, di norma, modificazioni a livello dei tessuti adiposi di riserva, costituiti essenzialmente da trigliceridi. L'aumento di questi acidi grassi normalmente coincide con la diminuzione del contenuto in acido arachidonico ($C_{20:4}$ n-6). Aumenti dello stesso ordine di grandezza sono stati ottenuti utilizzando farine di pesce (Mandell et al., 1997). L'inclusione di olio di pesce nella dieta di vitelloni da carne comporta, analogamente a quanto visto per il latte, un aumento del

contenuto di CLA e di acido vaccenico nel grasso intramuscolare (Enser et al., 1999).

I grassi vegetali

Per quanto riguarda l'integrazione energetica con oli vegetali, più ricchi di acidi insaturi, di nuovo si può ricorrere alla somministrazione di integratori non protetti e di integratori rumino-protetti. L'evidenza sperimentale ha chiaramente indicato che i grassi insaturi non protetti hanno un effetto depressivo sulla produzione di latte e vanno inevitabilmente incontro a più o meno massicce bio-idrogenazioni nel rumine. Sono quindi da evitare, a meno che il grasso non si trovi ancora come parte costituente dei tessuti dei semi delle oleaginose. Quindi, l'uso dei grassi vegetali nella dieta delle bovine da latte va limitato ai grassi rumino-protetti ed ai semi integrali di alcune oleaginose opportunamente trattate, come vedremo più avanti.

Molto illuminante è, a questo riguardo, il recente lavoro di Chouinard et al. (2001), nel quale vengono messe a confronto le seguenti fonti di integrazione energetica: saponi di calcio di olio di colza; saponi di calcio di olio di soia; saponi di calcio di olio di lino; semi integrali di soia estrusi, micronizzati e tostati; olio di pesce. Con i saponi di calcio, indipendentemente dal tipo di olio vegetale, il CLA del latte viene aumentato da 3 a 5 volte rispetto a quello del latte di animali di controllo nella cui dieta non erano presenti saponi di calcio di alcun genere. Con i semi di soia integrale il contenuto di CLA aumenta di 2-3 volte rispetto al controllo alimentato con soia integrale cruda. Con l'olio di pesce si aumenta di circa 3 volte. Si conclude che l'impiego di saponi di calcio è da considerare il mezzo migliore per integrare l'energia mancante nelle diete delle bovine in bilancio energetico negativo, con il risultato di migliorare anche la qualità del latte prodotto in termini di contenuto di CLA, confrontabile, anche se lievemente superiore all'impiego di semi integrali di soia trattata in qualche modo. Decisamente inferiori sono i risultati conseguenti all'impiego di olio di pesce, se non altro perché con questo si assiste anche ad una marcata depressione della quantità di latte prodotto. Questo studio confer-

ma in maniera più approfondita uno studio precedente dello stesso Chouinard (Chouinard et al., 1998).

Anche Solomon et al. (2000) hanno provato i semi integrali di soia estrusa in uno studio che tentava di evidenziare un eventuale effetto associativo con elevate quantità di carboidrati non strutturali (amido e pectine). L'effetto associativo non c'è stato, ma l'impiego della soia integrale ha fatto aumentare la produzione di latte di circa il 10%, con una diminuzione delle concentrazioni degli acidi grassi a catena medio-lunga (da C_8 a C_{16}), un aumento dello stearico ($C_{18:0}$) e dell'oleico ($C_{18:1}$) ed il raddoppio della concentrazione del CLA. Gli autori hanno potuto mettere in evidenza una buona correlazione ($r^2 = 0,77$) fra il $C_{18:1}$ *trans* 11 e il CLA, confermando l'attendibilità delle teorie già espresse sulle vie metaboliche che interessano questi acidi nel rumine.

Bas et al. (2000), in una loro rassegna bibliografica, hanno riportato gli effetti di alcuni fattori nutrizionali sulla composizione acidica del grasso presente nella carne di agnello sottolineando che il grasso di deposito immagazzinato durante il periodo antecedente allo svezzamento ha una notevole influenza sulla composizione acidica del tessuto adiposo e muscolare anche alcuni mesi dopo che lo svezzamento è avvenuto. Questi autori riportano che diete ricche in polpe di barbabietola o farine di pesce favoriscono l'incremento in $C_{18:1}$ a scapito del $C_{18:0}$, $C_{18:2}$ e $C_{18:3}$ nei tessuti mentre l'inclusione di mais o farine di cotone nella razione aumenta il contenuto di acido linoleico e di stearico nel grasso di deposito. Questa variazione in contenuto di acidi grassi saturi ed insaturi ha, ovviamente, un notevole riflesso sulla consistenza sia del grasso di deposito sia di quello presente nel muscolo. Elevati tassi di concentrato nell'alimentazione della capra inducono, invece, ad un aumento, nel grasso di deposito, di acidi grassi ramificati o a numero dispari di atomi di carbonio. Inoltre, con l'aumento del periodo di svezzamento il livello di $C_{18:0}$ presente nel tessuto adiposo diminuisce (Banskalieva et al., 2000).

Perez Alba et al. (1997), già qualche anno prima, sono stati fra i primi a studiare i saponi di calcio dell'olio di oliva. Questa volta integrati nella dieta di pecore da latte. I principali risultati sono stati: aumento della quantità di latte prodotto; diminuzione degli acidi a catena medio-lunga (da C_6 a C_{16}) e del linoleico ($C_{18:2}$); un aumen-

to dello stearico ($C_{18:0}$) e dell'oleico ($C_{18:1}$). Il CLA nel 1997 non aveva ancora ricevuto l'attenzione di cui è oggetto.

Antongiovanni et al. (1999) hanno messo a confronto i saponi di olio di oliva con quelli di olio di palma. Pur confermando che l'impiego dei saponi può far diminuire la concentrazione degli acidi grassi a catena medio-corta, questi autori hanno riscontrato che con i saponi di calcio di olio di oliva si ottiene un grasso relativamente più ricco di questi acidi (da C_6 a C_{14}) rispetto a quello che si ottiene con i saponi di olio di palma, mentre gli acidi a catena lunga (da C_{16} a C_{22}) sono meno rappresentati. Gli n-3 sono confrontabili.

Secchiari et al. (2001) in una prova condotta su bovine Frisone italiane hanno posto a confronto quattro diverse fonti lipidiche alimentari: saponi di calcio di olio di oliva; farina di estrazione di soia rivestita di uno strato protettivo di saponi di calcio di olio di palma; semi integrali di lino e semi integrali di soia tostata. Poiché dai risultati presenti in letteratura è evidente che la soia (estrusa o tostata) dà i risultati migliori nei riguardi della produzione qualitativa del latte, la dieta contenente questo alimento è stata presa come riferimento di controllo. I risultati sono stati i seguenti: la produzione quantitativa di latte è stata più elevata con i saponi di calcio di olio di oliva, più di 1 kg al giorno rispetto a tutte le altre tesi, ma è stata caratterizzata da una concentrazione di grasso più bassa, anche di mezzo punto (3 vs. 3,5%). Per quanto riguarda gli acidi grassi, la soia integrale tostata si è confermata il miglior alimento ad integrazione dell'energia della dieta con i saturi a catena medio-lunga più bassi e gli insaturi con C_{18} più elevati. I saponi di calcio di olio di oliva hanno avuto un comportamento intermedio. I peggiori risultati si sono avuti con i saponi di palma. Interessanti sono, infine, i dati relativi agli n-3 ed ai CLA. Di nuovo la soia integrale si è rivelata la miglior fonte lipidica e l'olio di palma la peggiore, anche se i saponi di olio di oliva hanno dato risultati confrontabili con quelli dell'olio di palma, sia per quanto riguarda i CLA che l'EPA. L'unico difetto, se così si può dire, è che con la soia si è avuta la concentrazione più alta di $C_{18:1}$ *trans* 10, cui sarebbe da preferire il *trans* 11, la cui maggior presenza avrebbe corrisposto ad una minore depressione della concentrazione del grasso.

Allo stesso modo, anche nel caso dei vitelloni da carne l'integra-

TIPO DI GRASSO	C _{16:0}	C _{18:0}	C _{18:1}	C _{18:2}	C _{18:3}	CLA
Controllo	27.3	18.5	40.0	2.0	0.6	
Sego bovino	28.2	19.6	37.5	1.8	0.4	
<i>Grassi vegetali non protetti</i>						
Soia	25.6	19.6	41.3	2.4	0.7	
Colza	24.3	21.2	40.6	2.0	0.7	
Girasole	24.4	19.5	42.4	2.7	1.1	
Lino	25.3	15.0	40.1	5.1	2.3	0.8
Cotone	28.0	18.5	39.0	2.3	0.6	
Palma	30.6	18.2	37.8	2.5	1.2	
Cartamo	25.5	19.2	40.4	5.6	0.9	
<i>Grassi vegetali protetti</i>						
Colza	22.7	19.3	39.6	9.1	1.1	
Girasole + soia	21.8	21.3	34.2	11.8	1.0	
Cotone, Girasole, Cartamo	22.6	20.7	37.8	13.7	0.6	

Tab. 4 *Effetto del tipo di sostanza grassa aggiunta alla razione sulla composizione acidica del grasso intramuscolare di vitelloni da carne (g/100g) (Adattata da Enser et al., 1999; Andrae et al., 2001; Bas e Sauvant, 2001)*

zione con semi oleosi ricchi in PUFA modifica la composizione acidica del tessuto adiposo e di quello muscolare. Per esempio, l'aggiunta di colza ad una dieta a base di cereali e paglia favorisce sia la diminuzione del C_{16:0} sia l'aumento degli acidi grassi C₁₈ (Geay et al., 2001). Anche in questo caso assistiamo ad una distribuzione preferenziale degli acidi grassi nei lipidi polari e neutri: i lipidi intramuscolari contengono una maggiore quantità di C_{18:1} e C_{18:2} n-6 di quelli presenti nel tessuto adiposo. Inoltre, l'integrazione con questa fonte grassata conduce ad un aumento, nel grasso di deposito, del contenuto in vitamina E che, essendo un antiossidante, preserva gli acidi grassi dal fenomeno della perossidazione.

L'effetto, tuttavia, risulta più marcato nel caso di somministrazioni di grassi ruminanti protetti. I semi di lino sembrano essere i più efficaci nel ridurre il contenuto di acido palmitico e nell'aumentare quello di oleico e α -linolenico (tab. 4).

CONCLUSIONI

Le conclusioni possono essere schematicamente rappresentate nei seguenti punti:

- è possibile modificare la qualità del latte e della carne attraverso la dieta;
- nei ruminanti la base foraggera è determinante nei riguardi della qualità del latte e della carne, ovvero della loro frazione grassa.
- i foraggi freschi pascolati direttamente danno i migliori risultati, specie se di montagna. Aumentano le concentrazioni degli acidi grassi a catena corta ($<C_{10}$); diminuiscono le concentrazioni degli acidi a catena medio-lunga (da C_{12} a C_{16}); aumentano gli n-3 ed i CLA;
- l'aggiunta di grassi o di alimenti che fungono da fonti grasse per l'integrazione energetica delle diete costituisce l'unica alternativa, laddove non ci si possa basare sul pascolo o sui foraggi freschi;
- da evitare i grassi di origine animale, si privilegino i grassi e gli alimenti di origine vegetale;
- al fine di evitare il più possibile i processi biologici naturali di bioidrogenazione nel rumine, i grassi devono essere protetti. La protezione migliore consiste nel trasformarli in saponi di calcio. Altrimenti, si debbono impiegare i semi integrali opportunamente trattati (estrazione, tostatura, ecc.), il tegumento e le pareti cellulari dei quali sono sufficiente protezione nei riguardi dei lipidi contenuti;
- gli effetti dell'integrazione sia con semi integrali che con sali di calcio sulla produzione riguardano: la quantità che può aumentare; gli acidi a catena medio-lunga (da C_{10} a C_{16}) che diminuiscono; i $C_{18:0}$ e $C_{18:1}$ che aumentano; gli n-3 ed ai CLA che aumentano anch'essi;
- fra i saponi di calcio quelli di olio di oliva si sono rivelati molto buoni, seguiti da quelli di palma;
- fra i semi integrali di oleaginose quelli di soia tostati risultano i migliori, superiori per i risultati ai saponi di calcio, anche sembra che la concentrazione del $C_{18:1}$ *trans* 10, legato alla cosiddetta MFD, aumenti però insieme agli altri C_{18} .

ABSTRACT

Nutritional strategies for the upgrading of lipids of foods of animal origin

The analytical fractions of foods of animal origin are reviewed and discussed. In particular, fatty acids are divided in "good ones" (PUFA and CLA) and "bad ones". The genesis of n-3 and n-6 PUFA in tissues and in the rumen is described and commented together with the possibility of manipulating some metabolic

pathways to get the best acidic pattern in milk and meat in terms of health safety for the consumer.

The history of changes of dietary habits of human beings from the Palaeolithic age to nowadays is presented in order to make the reader realise how dangerous is the diet of the so called "developed" western countries and to convince him/her that it is time to change.

Finally, the effects of the diet quality on the composition of milk and meat from ruminant animals are dealt with, with particular emphasis given to the influence of the quality of forages and to the addition to the diet of fats of plant and animals origin on the concentration of fatty acids.

It is concluded that the quality of milk and meat may be improved by dietary means: the best forages are those administered as green forages, best as highlands pastures, because the short chain, n-3 and CLA fatty acids are increased. As far as the addition of fats is concerned, the best ones are those of plant origin, namely the oil naturally contained in full fat soy bean grains; calcium salts of oils may be used as well, best the olive oil soap.

BIBLIOGRAFIA

- ANDRAE J.G., DUCKETT S.K., HUNT C.W., PRITCHARD G.T., OWENS F.N. (2001): *Effects of feeding high-oil corn to beef steers on carcass characteristics and meat quality*, «J. Anim. Sci.», 79, pp. 582-588.
- ANTONGIOVANNI, M., COSTANTINI, F., DE VINCENZI, S., PAUSELLI, M. (1999): *Ca salts of olive and palm oils fed to dairy cows: some aspects of the effect on milk yield and composition*, «Zoot. Nutr. Anim.», 25, pp. 123-129.
- ASHES J.R., SIEBERT B.D., GULATI S.K., CUTHBERTSON A.Z., SCOTT T.W. (1992): *Incorporation of n-3 fatty acids of fish oil into tissue and serum lipids of ruminants*, «Lipids», 27, pp. 629-631.
- BANNI S. e MARTIN J.C. (1998): *Conjugated linoleic acid and metabolites*, in *Trans Fatty Acids in Human Nutrition*, Sebedio and Christie Eds., Dundee, Scotland, pp. 261-302.
- BANSKALIEVA V., SAHLU T., GOETSCH A.L. (2000): *Fatty acid composition of goat muscles and fat depots: a review*, «Small Rum. Res.», 37, pp. 255-268.
- BAS P. and MORAND-FEHR P. (2000): *Effect of nutritional factors on fatty acid composition of lamb fat deposits*, «Liv. Prod. Sci.», 64, pp. 61-79.
- BAS P. and SAUVANT D. (2001): *Variations de la composition des dépôts lipidiques chez le bovins*, «INRA Prod. Anim.», 14 (5), pp. 311-322.
- BAUMAN D.E. and GRIINARI J.M. (2001): *Regulation and nutritional manipulation of milk fat: low fat milk syndrome*, «Liv. Prod. Sci.», 70, pp. 15-29.
- BAUMGARD L.H., CORL B.A., DWYER D.A., SAEBO A., BAUMAN D.E. (2000): *Identification of the conjugated linoleic acid isomer that inhibits milk fat synthesis*, «Am. J. Physiol. Regulatory Integrative Comp. Physiol.», 278, pp. R179-R184.
- BELURY M.A., MOYA-CAMARENA S.Y., LIU, K.L., VANDEN HEUVEL J.P. (1997): *Die-*

- tary conjugated linoleic acid induces peroxisome-specific enzyme accumulation and ornithine decarboxylase activity in mouse liver, «J. Nutr. Biochem.», 8, pp. 579-584.
- BONANOME A. and GRUNDY S.M. (1988): *Effect of dietary stearic acid on plasma cholesterol and lipoprotein*, «New England J. Medicine», 318, pp. 1244-1248.
- CHILLIARD Y, FERLAY A., DOREAU M. (2001): *Effect of different types of forages, animal fat or marine oils in cow's diet on milk fat secretion and composition, especially conjugated linoleic acid (CLA) and polyunsaturated fatty acids*, «Livestock Prod. Sci.», 70, pp. 31-48.
- CHIN S.F., STORKSON J.M., LIU W., ALBRIGHT K.J., PARIZA M.W. (1994): *Conjugated linoleic acid (9-11 and 10-12 octadecadienoic acid) is produced in conventional but not germ-free rats fed linoleic acid*, «J. Nutr.», 124, pp. 694-701.
- CHOUINARD P.Y., CORNEAU L., BARBANO D.M., METZGER L.E., BAUMAN D.E. (1999): *Conjugated linoleic acids alter milk fatty acid composition and inhibit milk fat secretion in dairy cows*, «J. Nutr.», 129, pp. 1579-1584.
- CHOUINARD P.Y., CORNEAU L., BUTLER W.R., CHILLIARD Y., DRACKLEY J.K., BAUMAN D.E. (2001): *Effect of dietary lipid source on conjugated linoleic acid concentration in milk fat*, «J. Dairy Sci.», 84, pp. 680-690.
- CHOUINARD P.Y., GIRARD V., BRISSON G.J. (1998): *Fatty acid profile and physical properties of milk fat from cows fed calcium salts of fatty acids with varying unsaturation*, «J. Dairy Sci.», 81, pp. 471-481.
- COCCHI M. and TURCHETTO E. (1999): *Acidi grassi polinsaturi e sviluppo perinatale*, «Prog. In Nutr.», 1, pp. 3-27.
- COLLOMB M., BUTIKOFER U., SIEBER R., BOSSET J.O., JEANGROS B. (2001): *Conjugated linoleic acid and trans fatty acid composition of cow's milk fat produced in lowlands and highlands*, «J. Dairy Res.», 68, pp. 519-523.
- DEWHURST R.J., SCOLLAN N.D., YUELL S.J., TWEED J.K.S., HUMPHREYS M.O. (2001): *Influences of species, cutting date and cutting interval on the fatty acid composition of grasses*, «Grass and Forage Science», 56, pp. 68-74.
- ENSER M., SCOLLAN N.D., CHOI N.J., KURT E., HALLET K., WOOD J.D. (1999): *Effect of dietary lipid on the content of conjugated linoleic acid (CLA) in beef muscle*, «Anim. Sci.», 69, pp. 143-146.
- FAO/OMS. (1998): *General conclusions and recommendations of the consultation, in Expert consultations on fats and oils in human nutrition*, FAO of the UN, Rome, Italy.
- FRENCH P., STANTON C., LAWLESS F., O'RIORDAN E.G., MONAHAN F.J., CAFFREY P.J., MOLONEY A.P. (2000): *Fatty acid composition, including conjugated linoleic acid, of intramuscular fat from steers offered grazed grass, grass silage or concentrate-based diets*, «J. Anim. Sci.», 78, pp. 2849-2855.
- FRITSCHÉ J. and STEINHART H. (1998): *Analysis, occurrence and physiological properties of trans fatty acids (TFA) with particular emphasis on conjugated linoleic acid isomers (CLA) - a review*, «Fett/Lipid», 100 (6), pp. 190-210.
- GEAY Y., BAUCHART D., HOCQUETTE J.F., CULIOLI J. (2001): *Effect of nutritional factors on biochemical, structural and metabolic characteristics of muscles in ruminants, consequences on dietetic value and sensorial qualities of meat*, «Reprod. Nutr. Dev.», 41, pp. 1-26.

- GRIINARI J.M. and BAUMAN D.E. (1996): *Biosynthesis of conjugated linoleic acid and its incorporation into meat and milk in ruminants*, in *Advances in Conjugated Linoleic Acid Research*, Yurawecz, Mossiba, Kramer, Pariza and Nelson Eds., AOCS Press, Champaign, IL, pp. 180-200.
- GRIINARI J.M., DWYER D.A., MCGUIRE M.A., BAUMAN D.E., PALMQUIST D.L., NURMELA K.V.V. (1998): *Trans-octadecenoic acids and milk fat depression in lactating dairy cows*, «J. Dairy Sci.», 81, pp. 1251-1261.
- GRIINARI J.M., NURMELA K., DWYER D.A., BARBANO D.M., BAUMAN D.E. (1999): *Variation of milk fat concentration of conjugated linoleic acid and milk fat percentage is associated with a change in ruminal biohydrogenation* [abstract], «J. Anim. Sci.», 80 (suppl. 1), pp. 117-118.
- INNIS S.M. and KING D.J. (1999): *Trans Fatty acids in human milk are inversely associated with concentrations of essential all-cis n-6 and n-3 fatty acids and determine trans, but not n-6 and n-3, fatty acids in plasma lipids of breast-fed infants*, «Am J Clin Nutr.», 70 (3), pp. 383-390.
- KELLY M.L., KOLVER E.S., BAUMAN D.E., VAN AMBURGH M.E. (1998): *Effect of intake of pasture on concentrations of conjugated linoleic acid in milk of lactating dairy cows*, «J. Dairy Sci.», 81, pp. 1630-1630.
- MANDELL I.B., BUCHANAN-SMITH J.G., HOLUB B.J., CAMPBELL C.P. (1997): *Effects of fish meal in beef cattle diets on growth performance, carcass characteristics and fatty acid composition of longissimus muscle*, «J. Anim. Sci.», 75, pp. 910-919.
- MOFFAT C.F. and MCGILL A.S. (1993): *Variability of the composition of fish oils: significance for the diet*, «Proc. Nutr. Soc.», 52, pp. 441-456.
- MUNDAY J.S., TOMPSON K.G., JAMES K.A.C. (1999): *Dietary conjugated linoleic acid promotes fatty streak formation in the C57Bl/6 mouse atherosclerosis model*, «Brit. J. Nutr.», 81, pp. 251-255.
- NICOLOSI R.J., LAITINEN L. (1996): *Dietary conjugated linoleic acid reduces aortic fatty streak formation greater than linoleic acid in hypercholesterolemic hamsters*, «FASEB Journal», 10, p. 2751.
- ONETTI S.G., SHAVER R.D., MCGUIRE M.A., GRUMMER R.R. (2001): *Effect of type and level of dietary fat on rumen fermentation and performance of dairy cows fed corn silage-based diets*, «J. Dairy Sci.», 84, pp. 2751-2759.
- PALMQUIST D.L. and JENKINS T.C. (1980): *Fat in lactation rations: review*, «J. Dairy Sci.», 63, pp. 1-14.
- PEDERSEN J. (2001): *More on trans fatty acids*, «Br. J. Nutr.», 85(3), pp. 249-250.
- PEREZ ALBA L.M., DE SOUZA CAVALCANTI S., PEREZ HERNANDEZ M., MARTINEZ MARIN A., FERNANDEZ MARIN G. (1997): *Calcium sops of olive fatty acids in the diets of Manchega dairy ewes: effect on digestibility and production*, «J. Dairy Sci.», 80, pp. 3316-3324.
- SECCHIARI P., ANTONGIOVANNI M., MELE M., SERRA A., BUCCIONI A., FERRUZZI G., PAOLETTI F. (2001): *Effect of fat source on trans C_{18:1} fatty acids and CLA in milk fat of Italian Friesian cows*, in Proc. XIV Congr. ASPA, Firenze, 12-15 June 2001, pp. 105-107.
- SELNER D.R. and SCHULTZ L.H. (1980): *Effects of feeding oleic acid or hydrogenated vegetable oils to lactating cows*, «J. Dairy Sci.», 63, pp. 1235-1241.

- SIMOPOULOS A.P. (1999): *New products for the agri-food industry: the return of n-3 fatty acids into the food supply*, «Lipids», 34 (suppl.), pp. 297-301.
- SOLOMON R., CHASE L.E., BEN-GHEDALIA D., BAUMAN D.E. (2000): *The effect of nonstructural carbohydrate and addition of full fat extruded soybeans on the concentration of conjugated linoleic acid in the milk fat of dairy cows*, «J. Dairy Sci.», 83, pp. 1322-1329.
- ULBRICHT T.L.V. and SOUTHGATE D.A.T. (1991): *Coronary heart disease: seven dietary factors*, «Lancet», 338, pp. 985-992.
- VERMUNT S.H., BEAUFRERE B., RIEMERSMA R.A., SEBEDIO J.L., CHARDIGNY J.M., MENSINK R.P., TransLinE Investigators (2001): *Dietary trans alpha-linolenic acid from deodorised rapeseed oil and plasma lipids and lipoproteins in healthy men: the TransLinE Study*, «Br J Nutr.», 85 (3), pp. 387-392.
- WILLIAMS C.M. (2000): *Dietary fatty acids and human health*, «Annal. Zootech.», 49, pp. 160-180.

ELISABETTA MURRU*, ELISABETTA ANGIONI*,
GIANFRANCA CARTA*, MARIA PAOLA MELIS*,
SEBASTIANO BANNI*

APPORTO ALIMENTARE DI CLA E VALUTAZIONE DEGLI EFFETTI DELLA LORO ATTIVITÀ BIOLOGICA IN MODELLI ANIMALI E NELL'UOMO

INTRODUZIONE

Le tendenze alimentari degli ultimi anni sono state caratterizzate dalla generale indicazione di limitare l'assunzione di cibi ricchi di lipidi a causa del loro alto contenuto calorico, trascurando, però, completamente i dettami dei nutrizionisti sugli importanti effetti farmacologici riconosciuti ad alcuni acidi grassi.

Recentemente è stata attribuita una serie di attività biologiche, potenzialmente importanti anche per l'uomo, ad un acido grasso insaturo a 18 atomi di carbonio, inusuale per la peculiare struttura a dieni coniugati (CD), che lo distingue dal più comune acido linoleico. Tale acido grasso è definito acido linoleico a dieni coniugati o CLA, acronimo dall'inglese Conjugated Linoleic Acid.

Il CLA era sconosciuto fino a 15 anni fa quando fu scoperto accidentalmente che aveva attività anti-mutagenica (Ha et al., 1987). Da quel momento le pubblicazioni sono cresciute in maniera esponenziale raggiungendo nel 2001 il numero di 181 nei più disparati campi di ricerca, da quella agronomica a quella medica (si consulti il sito <http://www.wisc.edu/fri/clarefs.htm> per la completa e continuamente aggiornata bibliografia sul CLA). Nonostante il grosso sforzo da parte della comunità scientifica per verificare gli effetti biologici del CLA e i possibili meccanismi d'azione, restano ancora diversi punti da chiarire. In particolare accertare se le attività biolo-

* *Dipartimento di Biologia Sperimentale, Sez. Patologia Sperimentale, Università degli Studi di Cagliari*

giche riscontrate nei modelli sperimentali possano essere applicate all'uomo.

EFFETTI BIOLOGICI DEL CLA

La grande attenzione rivolta al CLA è stata favorita dal fatto che numerosi esperimenti hanno messo in evidenza diverse importanti attività biologiche.

Alcuni ricercatori sostengono che il CLA abbia proprietà nutrizionali, infatti esso determina l'aumento della massa muscolare e la diminuzione della massa grassa. Questi risultati sono stati messi in evidenza tramite esperimenti condotti su topi e ratti nutriti in età giovanile e in età adulta con una dieta contenente CLA (Park et al., 1999).

Il CLA, seppure in misura minore rispetto all'acido laurico e linoleico, sembra svolgere anche un'azione batteriostatica contro un germe patogeno come la *Lysteria monocytogenes* (Wang e Johnson, 1992). Prove in merito sono state ottenute con l'infuso di cuore, di cervello e con il latte. Questa attività del CLA è probabilmente da attribuire alla sua struttura a dieni coniugati visto che un altro importante agente batteriostatico ampiamente utilizzato nell'industria alimentare, l'acido sorbico, possiede la stessa struttura.

Un altro effetto del CLA riguarda la modulazione della produzione di eicosanoidi. Si è visto che con un apporto pari all'1% di CLA, nel tessuto mammario e adiposo, si ha una diminuzione del contenuto dei metaboliti dell'acido linoleico, come l'acido arachidonico, substrato della cicloossigenasi e della lipossigenasi, enzimi necessari per la biosintesi degli eicosanoidi (Banni et al., 1999a). I metaboliti dell'acido linoleico, presenti in quantità inferiori, vengono sostituiti dai metaboliti del CLA, CD18:3 e CD20:3, inibendo così la sintesi degli eicosanoidi (Banni et al., 1999b). Un altro effetto che sembra correlato alla modulazione della produzione degli eicosanoidi sono gli effetti sul sistema immunitario (Cook et al., 1993; Wong et al., 1997; Hayek et al., 1999; Sugano et al., 1999; Whigham et al., 2001; Takahashi et al., 2002) e sul metabolismo osseo (Li et al., 1997; Watkins et al., 2000).

Studi condotti da Lee e collaboratori (Lee et al., 1994) hanno messo in evidenza l'attività antiaterogena. Nutrendo conigli con

concentrazioni di CLA pari allo 0,5%, si è riscontrato una diminuzione del colesterolo totale, delle LDL e dei trigliceridi rispetto ai conigli nutriti con la dieta di controllo. Inoltre, nei conigli con una dieta a base di CLA, veniva riscontrato un minore numero di lesioni sulla superficie aortica.

Un altro importante effetto riconosciuto al CLA è legato alla sua possibile attività antidiabetica verso il diabete di tipo II. È stato visto che nel fegato di topo il CLA dietetico determinava l'aumento dei livelli di mRNA per geni responsivi di alcuni recettori nucleari, quali i recettori PPAR α e PPAR γ (peroxisome proliferator-activated receptor), attivati dai proliferatori di perossisomi. Il CLA, al pari del troglitazone, induceva, probabilmente con un meccanismo di attivazione dei PPAR, un aumento della tolleranza al glucosio e manteneva la glicemia a livelli normali in ratti pre-diabetici (Houseknecht et al., 1998).

L'attività peculiare, più dimostrata, in diversi modelli sperimentali risulta l'azione chemioprotettiva del CLA. Infatti anche il CLA come diversi acidi grassi, quali l'eicosapentaenoico (20:5n-3) e il docosaesaenoico (22:6n-3), presenti nell'olio di pesce, mostra un'azione inibitoria nella cancerogenesi. La loro efficacia risulta però diversa, per produrre un significativo effetto protettivo nei confronti del cancro, gli acidi grassi della serie n-3 devono essere presenti nella dieta con concentrazioni di circa il 10%, mentre per il CLA sono sufficienti concentrazioni dell'1% (Ip, 1997). Altri dati mostrano inoltre che è fondamentale un rapporto ottimale tra gli acidi grassi dell'olio di pesce e l'acido linoleico perché venga esplicata l'azione inibitoria dei tumori (Ip, 1997), al contrario il CLA può agire indipendentemente dall'apporto di altri acidi grassi presenti nella dieta (Ip et al., 1996). Inoltre il CLA sembra svolgere la sua attività anti-cancerogena in diversi siti quali il colon (Liew et al., 1995), l'epidermide (Beryl et al., 1996) e lo stomaco (Ha et al., 1990). Sicuramente però l'azione anticancerogena del CLA nel caso di tumore mammario indotto da cancerogeno chimico è stata la più studiata.

In studi condotti dal gruppo di ricerca di Ip e collaboratori è stato riportato che alimentando gli animali con diete contenenti diverse concentrazioni di CLA (0,5%, 1,0% e 1,5%) si aveva una riduzione nell'insorgenza dell'adenocarcinoma mammario rispettivamente del 32%, 56% e 60% (Ip et al., 1991). Questi valori indica-

no chiaramente un effetto dose-dipendente fino all'1%, mentre concentrazioni maggiori non ne migliorano l'effetto (Ip et al., 1991). Inoltre risulta importante sottolineare che sono già sufficienti quantità pari allo 0,1% perché si riscontri una riduzione dei tumori (Ip et al., 1994).

In altri studi si è visto che somministrando un agente cancerogeno come la metilnitrosourea (MNU) ad animali alimentati con CLA, durante il periodo della maturazione della ghiandola mammaria, che va dal post-svezzamento a quello pre-puberale, si aveva una riduzione della comparsa del tumore (Ip et al., 1995). Questa osservazione suggerisce che il CLA è in grado di determinare cambiamenti nello sviluppo della ghiandola mammaria rendendola meno suscettibile alla trasformazione neoplastica (Thompson et al., 1997). Anche quando il CLA viene somministrato dopo il trattamento con il cancerogeno si ha un effetto protettivo, sopprimendo la promozione e progressione tumorale. In questo caso però, al contrario del primo, l'apporto di CLA, dopo l'iniziazione cancerogenica delle cellule mammarie, deve essere continuo per avere la massima protezione (Ip et al., 1997).

In un altro studio Ip e collaboratori valutarono la correlazione tra l'entità del carcinoma mammario e i cambiamenti della concentrazione del CLA nel tessuto mammario dipendente dall'apporto dietetico. I risultati dimostrarono che in seguito alla diminuzione del CLA nei lipidi neutri, conseguente alla sua sospensione, si riscontrava l'insorgenza dei tumori (Ip et al., 1997).

Tramite un progetto realizzato dagli stessi autori, finalizzato a determinare le modificazioni morfologiche e biochimiche della ghiandola mammaria indotte dal CLA contenuto nella dieta, è stato dimostrato che il CLA non influenza l'accumulo dei grassi totali nel tessuto mammario e riduce del 20% la densità dell'albero duttale globulare (Banni et al., 1999a).

Effetti biologici dei prodotti della bioidrogenazione: CLA e acido vaccenico

La maggior parte dei dati sul CLA in letteratura sono stati ottenuti con una miscela di isomeri prodotta sinteticamente tramite isome-

rizzazione alcalina dell'acido linoleico, in cui gli isomeri c9,t11 e il t10c12 sono i più concentrati.

In lavori successivi, invece, sono stati impiegati sia CLA naturali che singoli isomeri sintetici.

Il CLA, presente naturalmente nei prodotti lattiero caseari, consiste principalmente dell'isomero c9,t11, tanto che per questo isomero è stato proposto il nome acido rumenico (Kramer et al., 1998). L'isomero c9,t11 si forma anche dall'acido vaccenico, intermedio della bioidrogenazione, mediante la $\Delta 9$ desaturasi (Santora et al., 2000).

Diversi studi hanno dimostrato che è possibile aumentare i livelli di CLA e di acido vaccenico nel latte tramite l'impiego di oli vegetali ricchi soprattutto in acido linoleico (Bauman et al., 2000).

È stato dimostrato che l'apporto alimentare di burro naturalmente arricchito in CLA, durante lo sviluppo della ghiandola mammaria, è capace di ridurre di circa il 50% l'incidenza dei tumori indotti sperimentalmente col cancerogeno metilnitrosourea (Ip et al., 1999).

Quindi si può concludere che il CLA naturale presente nei prodotti lattiero caseari ha la stessa attività anticancerogena di quello sintetico. Inoltre si è notato che nei tessuti dei ratti alimentati col burro naturalmente arricchito in CLA, i livelli tissutali erano notevolmente più alti rispetto ai ratti nutriti con CLA sintetico (Ip et al., 1999). Si può notare che il burro naturalmente arricchito contiene anche un livello maggiore di acido vaccenico, l'altro prodotto della bioidrogenazione (Ip et al., 1999).

Alcuni lavori hanno dimostrato che l'acido vaccenico può venire metabolizzato a CLA tramite l'introduzione di un doppio legame in posizione 9 da parte della delta 9 desaturasi (Ip et al., 1999). Abbiamo quindi verificato che l'acido vaccenico può essere metabolizzato a CLA con conseguente attività anticancerogena. I risultati dimostrano che l'acido vaccenico viene convertito a CLA raggiungendo il massimo di conversione al 2% di vaccenico nella dieta (Banni et al., 2002). A questa concentrazione i livelli di CLA endogeno raggiungevano quelli ottenuti dall'apporto alimentare di 1% di CLA nella ghiandola mammaria, proteggendo dal tumore di circa il 50% (Banni et al., 2002). Quindi l'acido vaccenico rappresenta un'ulteriore fonte di CLA capace di contribuire all'attività anticancerogena.

Effetti biologici degli isomeri del CLA c9,t11 e t10c12

I due isomeri sembrano esercitare in alcuni casi diversa attività biologica (Pariza et al., 2001).

Il CLA *t* 10,*c*12 esercita attività specifiche sugli adipociti, in particolare riducendo l'uptake dei lipidi inibendo l'attività della lipoprotein lipasi (Park et al., 1999) e della $\Delta 9$ desaturasi (Park et al., 2000). Quindi questo isomero induce una modificazione del rapporto massa grassa/massa magra in favore di quest'ultima. Questo effetto può essere desiderabile nella riduzione della massa grassa ma diventa un problema in quanto inibisce anche la quantità di grasso presente nel latte materno (Ritzenthaler et al., 2001).

L'attività anticancerogena invece sembra essere svolta da ambedue gli isomeri. Infatti sia in sistemi in vitro, su cellule tumorali epatiche umane, che in modelli sperimentali di cancerogenesi mammaria, si è visto che entrambi gli isomeri proteggevano nella stessa maniera (Ip et al. 2002).

POSSIBILI MECCANISMI D'AZIONE

Studi in vitro fecero presupporre che il CLA avesse proprietà antiossidanti, con un'attività pari a quella di noti scavenger come il BHT e la vitamina E (Ha et al., 1990). Altre ricerche (Van de Berg et al., 1995) con i tre composti a pari concentrazione hanno però fornito diversi risultati. Mentre l'attività antiossidante veniva rivelata per il BHT e la vitamina E già a basse concentrazioni questo non accadeva per il CLA se non ad elevate concentrazioni, svelando così più un'attività competitiva che una reale azione antiossidante. Ulteriori ricerche su omogenati di fegato di ratti alimentati con CLA hanno confermato che non esiste nessuna attività protettiva verso la lipoperossidazione indotta da diversi pro-ossidanti (Banni et al. 1998).

Modifiche quali/quantitative dei metaboliti dell'acido linoleico in funzione dell'apporto di CLA

Il CLA, introdotto con la dieta, compete con l'acido linoleico per la desaturazione e l'allungamento della catena (Banni, 2002). Si sono

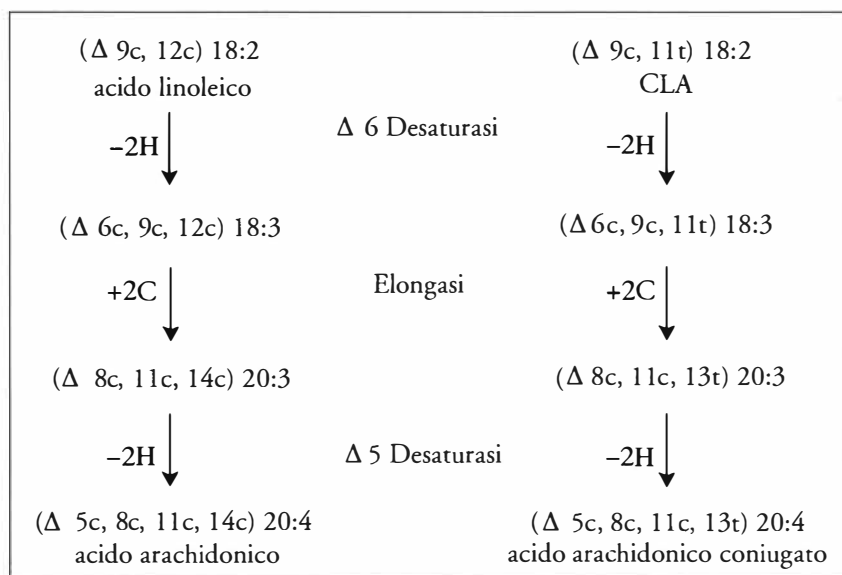


Fig. 1 *Metabolismo dell'acido linoleico e del CLA*

notati cambiamenti significativi nei livelli dei metaboliti dell'acido linoleico (il 18:3n-6, 20:3 e 20:4) solo in quei tessuti, come il tessuto adiposo e mammario, in cui i lipidi neutri sono i componenti predominanti e dove il CLA si accumula in via preferenziale (Banni et al., 1999a). In questi tessuti i metaboliti dell'acido linoleico a venti atomi di carbonio, acidi eicosatrienoico (20:3) ed arachidonico (20:4), substrati della biosintesi degli eicosanoidi, sono sostituiti dai metaboliti del CLA (CD18:3 e CD20:3) (Banni et al., 1999b), i quali, al contrario, sono in grado di inibire la via della cicloossigenasi e della lipossigenasi, con una riduzione della produzione degli eicosanoidi (Nugteren et al., 1987; Nugteren, 1970) (fig. 1). La protezione esercitata dal CLA nei confronti dei tumori potrebbe essere spiegata con una diminuzione nella produzione di eicosanoidi direttamente proporzionale all'apporto di CLA. È stato infatti dimostrato che gli eicosanoidi intervengono sia nel processo di cancerogenesi che in quello di aterogenesi (Nakazawa et al., 1993; Nakazawa et al., 1993b; Baxevanis et al., 1993; Grubbs, 1993; Rao, 1993).

È stata evidenziata una correlazione diretta tra la riduzione della concentrazione dell'acido arachidonico e quella dell'incidenza del

tumore mammario in funzione della concentrazione di CLA nella dieta (Banni et al., 1999a). La riduzione della densità dei TEB e il decremento dell'acido arachidonico, in relazione all'assunzione di CLA (0.5-2%), sembrano correlarsi con l'attività anti-cancerogena (Banni et al., 1999a).

Modulazione dei livelli di vitamina A

Recenti dati suggeriscono che l'azione anticancerogena del CLA potrebbe essere associata all'aumento di retinolo nei tessuti bersaglio per le sostanze cancerogene (Banni et al., 1999c). È stato osservato che elevate concentrazioni di retinil-esteri nella dieta (Napoli, 1996; Aylsworth, 1986) svolgono attività simili all'apporto di CLA. Infatti anch'essi determinano l'inibizione della proliferazione delle cellule del dotto e degli alveoli terminali nella ghiandola mammaria (Thompson et al., 1997) e un'azione preventiva nella cancerogenesi indotta da cancerogeni chimici (Ip et al., 1996; Ip et al., 1994).

I retinil-esteri introdotti con la dieta vengono idrolizzati nel lume intestinale e il risultante retinolo libero catturato dalle cellule della mucosa intestinale si lega ad una proteina denominata CRBP (cellular retinol binding protein). Nell'espressione del gene della CRBP sembra che siano coinvolti dei recettori presenti nel citoplasma: i PPAR α . Questi recettori vengono attivati dai propri ligandi tra i quali viene incluso il CLA, è quindi plausibile pensare che il CLA possa aumentare i livelli di CRBP nelle cellule intestinali facilitando così l'assorbimento del retinolo.

Da studi condotti su campioni di fegato si è visto che il retinolo aumenta progressivamente in relazione all'assunzione di CLA (Banni et al., 1999c). In animali nutriti con una dieta contenente il 2% di CLA si è infatti osservato un incremento di retinolo libero cinque volte maggiore rispetto al controllo, l'aumento dei retinil-esteri, al contrario, non mostra una correlazione dose - risposta con il CLA assunto (Banni et al., 1999c). I retinil-esteri raggiungono un valore massimo in animali alimentati con una dieta contenente l'1% di CLA, mantenendo un valore pressoché costante con concentrazioni maggiori (Banni et al., 1999c). È possibile che, poiché il rapporto tra i retinil-esteri e il retinolo libero diminuisce in seguito all'aumentare dell'apporto di CLA,

questo possa modificare la distribuzione delle due molecole nel fegato.

Anche la capacità del CLA di determinare una diminuzione del peso corporeo e un incremento nell'accumulo dei lipidi epatici è legata probabilmente all'attivazione dei PPAR (Belury et al., 1996; Belury et al., 1997).

Queste osservazioni suggerirebbero un ruolo molto importante nella modulazione del metabolismo lipidico da parte del CLA. Infatti specifici elementi responsivi ai PPAR sono stati identificati nelle regioni regolatorie di geni codificanti enzimi per il metabolismo lipidico come acil-CoA ossidasi, enoil-CoA idratasi/3-idrossiacil-CoA deidrogenasi, citocromo P450, L-FABP (fatty acid binding protein), acil-CoA sintetasi, lipoproteina lipasi e altri (Moya-Camarena et al., 1999).

CLA NELL'UOMO

I primi dati sulla presenza di CLA nel plasma umano risalgono ai primi anni '80 con i lavori del gruppo di Dormandy (Braganza et al., 1983; Iversen et al., 1984; Iversen et al., 1985). Solo nel 1992 fu preso in considerazione che il CLA potesse avere origine dietetica (Bittton et al., 1992) e successivamente fu dimostrato che un aumentato apporto di prodotti lattiero caseari induceva un aumento di CLA plasmatici (Huang et al., 1994). È interessante notare che anche l'apporto di un altro prodotto della bioidrogenazione, l'acido vaccenico, è in grado di aumentare, tramite delta 9 desaturazione, i livelli plasmatici di CLA (Adlof et al., 2000). Inoltre è stata rilevata la presenza dei metaboliti del CLA, CD 18:3 e CD 20:3, in plasma e tessuto adiposo (Lucchi et al., 2000). Dal rapporto CLA/metaboliti parrebbe che il CLA nell'uomo venga metabolizzato similmente a quanto riscontrato negli animali da esperimento. Per quanto riguarda possibili effetti biologici del CLA nell'uomo, solo recentemente sono stati pubblicati dati ottenuti da trial di intervento (Ritzenthaler et al., 2001; Berven et al., 2000; Blankson et al., 2000; Zambell et al., 2000; Medina et al., 2000; Kelley et al., 2000; Kelley et al., 2001; Benito et al., 2001a; Benito et al., 2001b; Mougios et al., 2001; Risersus et al., 2001; Smed-

man et al., 2001; Thom et al., 2001). I limiti degli studi fatti finora sono: lo stretto range delle dosi impiegate (da 1.7 a 6.8 grammi), il periodo dei trial, estesi al massimo per 3 mesi, l'uso di miscele di isomeri invece dei prodotti puri, e l'impiego di soggetti sani (in 3 studi si sono inclusi anche soggetti obesi) (Berven et al., 2000; Blankson et al., 2000; Risersus et al., 2001) dove è obiettivamente difficile vedere possibile effetti benefici, dato che anche nell'animale da esperimento la maggior parte degli effetti biologici sono stati riscontrati in modelli sperimentali di diverse patologie. Gli effetti più consistenti riscontrati sono stati un leggero, ma significativo aumento del rapporto massa magra/massa grassa (Blankson et al., 2000; Mougios et al., 2001; Risersus et al., 2001, Thom et al., 2001) anche se non sempre confermato (Zambell et al., 2000; Smedman et al., 2001). In studi non ancora pubblicati si è notato un potenziamento del sistema immunitario.

In alcune patologie si è riscontrato un aumento dei livelli di CLA senza un aumento del suo apporto alimentare (Lucchi et al., 2000, Erksine et al., 1985; Fairbank et al., 1988; Situnayake et al., 1990; Banni et al., 1996). Questo aumento potrebbe essere dovuto ad un aumentata attività della $\Delta 9$ desaturasi che indurrebbe la metabolizzazione del vaccenico a CLA (Banni et al. Manoscritto in preparazione).

CONCLUSIONI

Il CLA sembra determinare modificazioni nel metabolismo lipidico che compenserebbero gli effetti di altri acidi grassi, come l'acido linoleico, il quale, invece, possiede un effetto stimolante ad esempio sulla cancerogenesi mammaria. Questa caratteristica lo contraddistingue da altri acidi grassi polinsaturi, aventi proprietà anti-cancerogene, come quelli della serie n-3, la cui attività è modulata dalla concentrazione di acido linoleico nella dieta (Ip et al., 1997).

Il CLA è un acido grasso polinsaturo con tre caratteristiche peculiari: 1) si incorpora nelle diverse classi lipidiche come l'acido oleico, e similmente a questo, si incorpora preferenzialmente in quei tessuti ricchi in lipidi neutri come il tessuto adiposo e la ghiandola mammaria; 2) viene metabolizzato come l'acido linoleico, competendo

con quest'ultimo a livello di desaturasi ed elongasi. Questa competizione porta da una parte ad una diminuzione di acidi eicosatrienoico e arachidonico per la sintesi di eicosanoidi e dall'altra ad una sostituzione dei substrati naturali con i metaboliti del CLA, dei quali è stata dimostrata l'attività come inibitori della ciclossigenasi e lipossigenasi; 3) è capace di aumentare i livelli di retinolo in diversi tessuti, un effetto che potrebbe essere ricondotto all'induzione della β -ossidazione perossisomiale da parte del CLA con conseguente attivazione del "peroxisome proliferator activated receptor α " (PPAR α). Queste proprietà peculiari del CLA potrebbero spiegare perché la sua attività biologica possa essere considerata indipendente dalla qualità e dalla quantità dei grassi introdotti con la dieta.

L'attività svolta dal CLA sulla sintesi degli eicosanoidi, potrebbe rappresentare il fattore chiave comune per i suoi effetti pleiotropici. La nostra attuale ipotesi di lavoro è che questo fattore in sinergia con l'aumento di retinolo tissutale possano mediare l'attività biologica del CLA.

Un dato interessante è che anche il CLA naturalmente presente nel latte e nella carne dei ruminanti sembra avere attività biologiche almeno in modelli sperimentali. Inoltre in questi alimenti si trova l'acido vaccenico, in quanto prodotto anche lui durante le bioidrogenazioni ruminali, che può venire metabolizzato a CLA. Quindi l'acido vaccenico, essendo di solito più concentrato del CLA, contribuisce notevolmente ad aumentare i livelli tissutali di CLA.

Se l'attività preventiva del CLA su diverse patologie verrà confermata anche nell'uomo, questo acido grasso naturalmente prodotto, dimostrerà di possedere le caratteristiche ideali come agente preventivo in quanto assumibile con alimenti importanti per il loro valore nutrizionale, quale il latte e i suoi derivati e la carne, soprattutto durante la fase di sviluppo, momento nel quale il CLA esplicherebbe la sua attività con maggiore efficacia.

Alcune patologie in cui il CLA sembra essere efficace quali cancro e aterosclerosi necessitano molti anni per svilupparsi. Quindi per intervenire in maniera efficace è necessario avere una continua disponibilità di chemiopreventivi, per contrastare o perfino ridurre gli effetti dannosi indotti da un largo spettro di agenti dannosi presenti nell'ambiente. Gli alimenti arricchiti in CLA sarebbero una via per veicolare sostanze con attività preventiva verso queste pato-

logie senza dover modificare in maniera radicale le proprie abitudini alimentari.

ABSTRACT

The concepts of food are changing from a past emphasis on survival, hunger, satisfaction, absence of adverse effect on health, and health maintenance to an emphasis on the promising use of foods to promote better health and well-being, thus helping to reduce the risk of chronic illness such as cardiovascular disease, some cancers and obesity. Therefore, it is becoming more and more important to identify those food components which may have an impact on the development of chronic diseases.

Recently, much attention has been directed toward an unusual PUFA named conjugated linoleic acid (CLA), naturally present in meat from ruminants and dairy products, for the several beneficial activities demonstrated in different experimental conditions, such as protection against cancer and atherosclerosis, stimulation of certain immune functions, reduction of body fat, normalization of impaired glucose tolerance in type 2 diabetes, influence on bone formation, as well as several other effects. Furthermore, it has been shown that vaccenic acid, the major trans fatty acid present in dairy products can be converted to c9t11 CLA by delta 9 desaturation in animal and human tissues, is able to exert anti-carcinogenic activity in the rat model of mammary carcinogenesis. Therefore vaccenic acid should be regarded as a potential source of CLA and as such, able to exert the same biological effects.

Unfortunately there is very little published human research on CLA. The discovery of the mechanism(s) of action by which CLA exerts its beneficial effects may give some clues on whether it may be also active in humans.

A common mechanism by which CLA could exert their beneficial effects may be re-conducted at least in part to their metabolism through desaturation and elongation and consequent perturbation of fatty acid metabolism. As a result, CLA may interfere with eicosanoid formation by different ways, 1) by decreasing arachidonic acid supply, 2) by interfering with lipoxygenase and cyclooxygenase pathways, 3) by forming eicosanoid-like molecules which may then compete with regular eicosanoids.

It has also been shown that CLA is able to increase free retinol in different tissues, which may regulate cell proliferation and inflammation process. The increase of retinol by CLA feeding may be re-conducted to the activation of peroxisome proliferator activated receptors (PPARs). These receptors, which molecular assays have indeed indicated that CLA is a high affinity ligand, belong to a family of transcription factors known to affect gene expression and thereby glucose and lipid metabolism.

All these factors may well explain the pleiotropic effects of CLA in influencing inflammation, cell proliferation, glucose tolerance and immune functions all

involved in the pathological states where CLA has been shown to exert a protective effect.

BIBLIOGRAFIA

- ADLOF R.O., DUVAL S., EMKEN E.A. (2000): *Biosynthesis of conjugated linoleic acid in humans*, «Lipids», 35, pp. 131-135.
- AYLSWORTH C.F. (1986): *Influence of dietary retinyl acetate on normal rat mammary gland development and on the enhancement of 7,12-dimethylbenz[a]anthracene-induced rat mammary tumorigenesis by high levels of dietary fat*, «J. Nat. Cancer Inst.», 76, pp. 339-345.
- BANNI S. (2002): *Conjugated linoleic acid metabolism*, «Curr. Opin. Lipidol.», in Press.
- BANNI S., ANGIONI E., CARTA G., CASU V., DEIANA M., DESSI M.A., LUCCHI L., MELIS M.P., ROSA A., VARGIOLU S., CORONGIU F.P. (1999b): *Influence of dietary conjugated linoleic acid on lipid metabolism in relation to its anticarcinogenic activity*, in YURAWECZ M.P., MOSSOBA M.M., KRAMER J.K.G., PARIZA M.W., NELSON G.J., *Advances In Conjugated Linoleic Acid Research*, 1, pp. 307-318.
- BANNI S., ANGIONI E., CASU V., MELIS M.P., CARTA G., CORONGIU F.P., THOMPSON H., IP C. (1999a): *Decrease in linoleic acid metabolites as a potential mechanism in cancer risk reduction by conjugated linoleic acid*, «Carcinogenesis», 20, pp. 1019-1024.
- BANNI S., ANGIONI E., CASU V., MELIS M.P., SCRUGLI S., CARTA G., CORONGIU F.P., IP C. (1999c): *An increase in vitamin A status by the feeding of conjugated linoleic acid*, «Nutr. Cancer», 33, pp. 53-57.
- BANNI S., ANGIONI E., CONTINI M.S., CARTA G., CASU V., IENGO G.A., MELIS M.P., DEIANA M., DESSI M.A., CORONGIU F.P. (1998): *Conjugated Linoleic Acid and Oxidative Stress*, «J. of Am. Oil Chem. Soc.», 75, pp. 261-267.
- BANNI S., ANGIONI E., MURRU E., CARTA G., MELIS M.P., BAUMAN D.E., DONG Y., IP C. (2002): *Vaccenic acid feeding increases tissue levels of conjugated linoleic acid and suppresses the development of premalignant lesions in the rat mammary gland*, «Nutr. Cancer», in Press.
- BANNI S., LUCCHI L., BARALDI A., BOTTI B., CAPPELLI G., CORONGIU F.P., DESSI M.A., TOMASI A., LUSVARGHI E. (1996): *No direct evidence of increased lipid peroxidation in hemodialysed patients*, «Nephron», 72, pp. 177-183.
- BAUMAN D.E., BARBANO D.M., DWYER D.A., GRIINARI J.M. (2000): *Technical note: Production of butter with enhanced conjugated linoleic acid for use in biomedical studies with animal models*, «J. Dairy Sci.», 83, pp. 2422-2425.
- BAXEVANIS C.N., RECLOS G.J., GRITZAPIS A.D., DEDOUSIS G.V.Z., MISSITZIS I., PAPAMICHAIL M. (1993): *Elevated Prostaglandin E2 Production by Monocytes Is Responsible for the Depressed Levels of Natural Killer and Lymphokine-Activated Killer Cell Function in Patients with Breast Cancer*, «Cancer», 72, pp. 491-501.
- BELURY M.A. and KEMPASTECZKO A. (1997): *Conjugated Linoleic Acid Modulates*

- Hepatic Lipid Composition in Mice*, «Lipids», 32, pp. 199-204.
- BELURY M.A., NICKEL K.P., BIRD C.E., WU Y. (1996): *Dietary conjugated linoleic acid modulation of phorbol ester skin tumor promotion*, «Nutr. Cancer», 26, pp. 149-157.
- BENITO P., NELSON G.J., KELLEY D.S., BARTOLINI G., SCHMIDT P.C., SIMON V. (2001a): *The effect of conjugated linoleic acid on platelet function, platelet fatty acid composition, and blood coagulation in humans*, «Lipids», 36, pp. 221-227.
- BENITO P., NELSON G.J., KELLEY D.S., BARTOLINI G., SCHMIDT P.C., SIMON V. (2001b): *The effect of conjugated linoleic acid on plasma lipoproteins and tissue fatty acid composition in humans*, «Lipids», 36, pp. 229-236.
- BERVEN G., BYE A., HALS O., BLANKSON H., FAGERTUN H., THOM E., WADSTEIN J., GUDMUNDSEN O. (2000): *Safety of conjugated linoleic acid (CLA) in overweight or obese human volunteers*, «Eur. J. Lipid Sci. Technol.», 102, pp. 455-462.
- BLANKSON H., STAKKESTAD J.A., FAGERTUN H., THOM E., WADSTEIN J., GUDMUNDSEN O. (2000): *Conjugated linoleic acid reduces body fat mass in overweight and obese humans*, «J. Nutr.», 130, pp. 2943-2948.
- BRAGANZA J.M., WICKENS D.G., CAWOOD P., DORMANDY T.L. (1983): *Lipid peroxidation (free radical oxidation) products in bile from patients with pancreatic disease*, «Lancet», 375.
- BRITTON M., FONG C., WICKENS D.G., YUDKIN J. (1992): *Diet as a source of phospholipid esterified 9,11-octadecadienoic acid in humans*, «Clin.Sci.», 83, pp. 97-101.
- COOK M.E., MILLER C.C., PARK Y., PARIZA M.W. (1993): *Immune modulation by altered nutrient metabolism: nutritional control of immune-induced growth depression*, «Poultry Sci.», 72, pp. 1301-1305.
- ERSKINE K.J., IVERSEN S.A., DAVIES R. (1985): *An altered ratio of 18:2 (9,11) to 18:2 (9,12) linoleic acid in plasma phospholipids as a possible predictor of pre-eclampsia*, «Lancet», 554.
- FAIRBANK J., HOLLINFORTH A., GRIFFIN J., RIDGWAY E., WICKENS D.G., SINGER A., DORMANDY T.L. (1988): *Octadeca-9-11-dienoic acids in diagnosis of cervical intraepithelial neoplasia*, «Lancet», 2, pp. 329-330.
- GRUBBS C.J. (1993): *Chemoprevention by indomethacin of N-butyl-N-(4-hydroxybutyl)-nitrosamine-induced urinary bladder tumors*, «Anticancer Res.», 13, pp. 33-36.
- HA Y.L., GRIMM N.K., PARIZA M.W. (1987): *Anticarcinogens from fried ground beef: heat-altered derivatives of linoleic acid*, «Carcinogenesis», 8, pp. 1881-1887.
- HA Y.L., STORKSON J., PARIZA M.W. (1990): *Inhibition of benzo(a)pyrene-induced mouse forestomach neoplasia by conjugated dienoic derivatives of linoleic acid*, «Cancer Res.», 50, pp. 1097-1101.
- HAYEK M.G., HAN S.N., WU D.Y., WATKINS B.A., MEYDANI M., DORSEY J.L., SMITH D.E., MEYDANI S.N. (1999): *Dietary conjugated linoleic acid influences the immune response of young and old C57BL/6NCrlBR mice*, «J. Nutr.», 129, pp. 32-38.
- HOUSEKNECHT K.L., VANDENHEUVEL J.P., MOYACAMARENA S.Y., PORTOCARRERO C.P., PECK L.W., NICKEL K.P., BELURY M.A. (1998): *Dietary Conjugated Lino-*

- leic Acid Normalizes Impaired Glucose Tolerance in the Zucker Diabetic Fatty Fa/Fa Rat*, «Biochem.Biophys.Res. Commun.», 244, pp. 678-682.
- HUANG Y.C., LUEDECKE L.O., SHULTZ T.D. (1994): *Effect of Cheddar Cheese Consumption on Plasma Conjugated Linoleic Acid Concentrations in Men*, «Nutr. Res.», 14, pp. 373-386.
- IP C. (1997): *Review of the Effects of Trans Fatty Acids, Oleic Acid, N-3 Polyunsaturated Fatty Acids, and Conjugated Linoleic Acid on Mammary Carcinogenesis in Animals*, «Am. J. Clin.Nutr.», 66, pp. S1523-S1529.
- IP C., BANNI S., ANGIONI E., CARTA G., MCGINLEY J., THOMPSON H.J., BARBANO D., BAUMAN D. (1999): *Conjugated linoleic acid-enriched butter fat alters mammary gland morphogenesis and reduces cancer risk in rats*, «J. Nutr.», 129, pp. 2135-2142.
- IP C., BRIGGS S.P., HAEGELE A.D., THOMPSON H.J., STORKSON J., SCIMECA J.A. (1996): *The Efficacy of Conjugated Linoleic Acid in Mammary Cancer Prevention Is Independent of the Level or Type of Fat in the Diet*, «Carcinogenesis», 17, pp. 1045-1050.
- IP C., CHIN S.F., SCIMECA J.A., PARIZA M.W. (1991): *Mammary cancer prevention by conjugated dienoic derivative of linoleic acid*, «Cancer Res.», 51, pp. 6118-6124.
- IP C., DONG Y., IP M.M., BANNI S., CARTA G., ANGIONI E., MURRU E., SPADA S., MELIS M.P., SAEBO A. (2002): *Conjugated linoleic acid isomers and mammary cancer prevention*, «Nutr. Cancer», in Press.
- IP C., JIANG C., THOMPSON H.J., SCIMECA J.A. (1997): *Retention of Conjugated Linoleic Acid in the Mammary Gland Is Associated with Tumor Inhibition During the Post-Initiation Phase of Carcinogenesis*, «Carcinogenesis», 18, pp. 755-759.
- IP C., SCIMECA J.A., THOMPSON H. (1995): *Effect of Timing and Duration of Dietary Conjugated Linoleic Acid on Mammary Cancer Prevention*, «Nutr. Cancer», 24, pp. 241-247.
- IP C., SINGH M., THOMPSON H.J., SCIMECA J.A. (1994): *Conjugated Linoleic Acid Suppresses Mammary Carcinogenesis and Proliferative Activity of the Mammary Gland in the Rat*, «Cancer Res.», 54, pp. 1212-1215.
- IVERSEN S.A., CAWOOD P., MADIGAN M.J., LAWSON A.M., DORMANDY T.L. (1985): *A diene-conjugated isomer of linoleic acid, 18:2(9,11), in human plasma phospholipids*, «Life Chem.Rep.», 3, pp. 45-48.
- IVERSEN S.A., CAWOOD P., MADIGAN M.J., LAWSON A.M., DORMANDY T.L. (1984): *Identification of a diene conjugated component of human lipid as octadeca-9,11 dienoic acid*, «FEBS Lett.», 171, pp. 320-324.
- KELLEY D.S., SIMON V.A., TAYLOR P.C., RUDOLPH I.L., BENITO P., NELSON G.J., MACKAY B.E., ERICKSON K.L. (2001): *Dietary supplementation with conjugated linoleic acid increased its concentration in human peripheral blood mononuclear cells, but did not alter their function*, «Lipids», 36, pp. 669-674.
- KELLEY D.S., TAYLOR P.C., RUDOLPH I.L., BENITO P., NELSON G.J., MACKAY B.E., ERICKSON K.L. (2000): *Dietary conjugated linoleic acid did not alter immune status in young healthy women*, «Lipids», 35, pp. 1065-1071.
- KRAMER J.K.G., PARODI P.W., JENSEN R.G., MOSSOBA M.M., YURAWECZ M.P., AD-

- LOF R.O. (1998): *Rumenic Acid - a Proposed Common Name for the Major Conjugated Linoleic Acid Isomer Found in Natural Products*, «Lipids», 33, p. 835.
- LEE K.N., KRITCHEVSKY D., PARIZA M.W. (1994): *Conjugated Linoleic Acid and Atherosclerosis in Rabbits*, «Atherosclerosis», 108, pp. 19-25.
- LI Y., ALLEN K.G.D., WATKINS B.A. (1997): *Dietary conjugated linoleic acid reduced ex vivo bone PGE 2 production in rats*, «FASEB J.», 11, p. A165.
- LIEW C., SCHUT H.A.J., CHIN S.F., PARIZA M.W., DASHWOOD R.H. (1995): *Protection of conjugated linoleic acids against 2-amino-3-methylimidazo[4,5-f]quinoline-induced colon carcinogenesis in the f344 rat - a study of inhibitory mechanisms*, «Carcinogenesis», 16, pp. 3037-3043.
- LUCCHI L., BANNI S., MELIS M.P., ANGIONI E., CARTA G., CASU V., RAPANA R., CIUFFREDA A., CORONGIU F.P., ALBERTAZZI A. (2000): *Changes in conjugated linoleic acid and its metabolites in patients with chronic renal failure*, «Kidney Int.», 58, pp. 1695-1702.
- MEDINA E.A., HORN W.F., KEIM N.L., HAVEL P.J., BENITO P., KELLEY D.S., NELSON G.J., ERICKSON K.L. (2000): *Conjugated linoleic acid supplementation in humans: Effects on circulating leptin concentrations and appetite*, «Lipids», 35, pp. 783-788.
- MOUGIOS V., MATSAKAS A., PETRIDOU A., RING S., SAGREDOS A., MELISSOPOULOU A., TSGILIS N., NIKOLAIDIS M. (2001): *Effect of supplementation with conjugated linoleic acid on human serum lipids and body fat*, «J. Nutr. Biochem.», 12, pp. 585-594.
- MOYA-CAMARENA S.Y., VANDEN HEUVEL J.P., BLANCHARD S.G., LEESNITZER L.A., BELURY M.A. (1999): *Conjugated linoleic acid is a potent naturally occurring ligand and activator of PPARalpha*, «J. Lipid Res.», 40, pp. 1426-1433.
- NAKAZAWA I., IWAIZUMI M., OHUCHI K. (1993): *Some Features in Prostaglandin Synthesis of the Cancer Cells Which Metastasized into Liver from Intestinal Cancer Lesions*, «Tohoku J. Exper. Med.», 170, pp. 131-133.
- NAKAZAWA I., IWAIZUMI M., OHUCHI K. (1993): *Some Features of Prostaglandin Synthesis of the Cancer Cells Metastasized into Liver from Gastric Cancer Lesions*, «Tohoku J. Exper. Med.», 170, pp. 59-61.
- NAPOLI J.L. (1996): *Biochemical Pathways of Retinoid Transport, Metabolism, and Signal Transduction*, «Clin. Immunol. Immunopathol.», 80, pp. S 52-S 62.
- NUGTEREN D.H. and CHRIST-HAZELHOF E. (1987): *Naturally occurring conjugated octadecatrienoic acids are strong inhibitors of prostaglandin biosynthesis*, «Prostaglandins», 33, pp. 403-417.
- NUGTEREN D.H. (1970): *Inhibition of prostaglandin biosynthesis by 8cis, 12trans, 14cis-eicosatrienoic acid and 5cis, 8cis, 12trans, 14cis-eicosatetraenoic acid*, «Biochim.Biophys.Acta», 210, pp. 171-176.
- PARIZA M.W., PARK Y., COOK M.E. (2001): *The biologically active isomers of conjugated linoleic acid [Review]*, «Progr.Lipid Res.», 40, pp. 283-298.
- PARK Y., ALBRIGHT K.J., STORKSON J.M., LIU W., COOK M.E., PARIZA M.W. (1999): *Changes in body composition in mice during feeding and withdrawal of conjugated linoleic acid*, «Lipids», 34, pp. 243-248.
- PARK Y., STORKSON J.M., ALBRIGHT K.J., LIU W., PARIZA M.W. (1999): *Eviden-*

- ce that the *trans*-10,*cis*-12 isomer of conjugated linoleic acid induces body composition changes in mice, «Lipids», 34, pp. 235-241.
- PARK Y., STORKSON J.M., NTAMBI J.M., COOK M.E., SIH C.J., PARIZA M.W. (2000): *Inhibition of hepatic stearyl-CoA desaturase activity by trans-10,cis-12 conjugated linoleic acid and its derivatives*, «Biochim.Biophys.Acta», 1486, pp. 285-292.
- RAO C.V. (1993): *Modulating effect of amount and types of dietary fat on ornithine decarboxylase, tyrosine protein kinase and prostaglandins production during colon carcinogenesis in male F344 rats*, «Carcinogenesis», 14, pp. 1327-1333.
- RISERUS U., BERGLUND L., VESSBY B. (2001): *Conjugated linoleic acid (CLA) reduced abdominal adipose tissue in obese middle-aged men with signs of the metabolic syndrome: a randomised controlled trial*, «International J. Obes.», 25, pp. 1129-1135.
- RITZENTHALER K.L., MCGUIRE M.K., FALEN R., SHULTZ T.D., DASGUPTA N., MCGUIRE M.A. (2001): *Estimation of conjugated linoleic acid intake by written dietary assessment methodologies underestimates actual intake evaluated by food duplicate methodology*, «J. Nutr.», 131, pp. 1548-1554.
- SANTORA J.E., PALMQUIST D.L., ROEHRIG K.L. (2000): *Trans-vaccenic acid is desaturated to conjugated linoleic acid in mice*, «J. Nutr.», 130, pp. 208-215.
- SITUNAYAKE R.D., CRUMP B.J., THURNHAM D.I., DAVIES J.A., GEARTY J., DAVIS M. (1990): *Lipid peroxidation and hepatic antioxidant in alcoholic liver disease*, «Gut», 31, pp. 1311-1317.
- SMEDMAN A. and VESSBY B. (2001): *Conjugated linoleic acid supplementation in humans – Metabolic effects*, «Lipids», 36, pp. 773-781.
- SUGANO M., YAMASAKI M., YAMADA K., HUANG Y.S. (1999): *Effect of conjugated linoleic acid on polyunsaturated fatty acid metabolism and immune function*, in YURAWECZ M.P., MOSSOBA M.M., KRAMER J.K.G., PARIZA M.W., NELSON G.J., *Advances In Conjugated Linoleic Acid Research*, 1, pp. 327-339.
- TAKAHASHI K., KAWAMATA K., AKIBA Y., IWATA T., KASAI M. (2002): *Influence of dietary conjugated linoleic acid isomers on early inflammatory responses in male broiler chickens*, «Br. Poultry Sci.», 43, pp. 47-53.
- THOM E., WADSTEIN J., GUDMUNDSEN O. (2001): *Conjugated linoleic acid reduces body fat in healthy exercising humans*, «J. Int. Med. Res.», 29, pp. 392-396.
- THOMPSON H., ZHU Z.J., BANNI S., DARCY K., LOFTUS T., IP C. (1997): *Morphological and Biochemical Status of the Mammary Gland as Influenced by Conjugated Linoleic Acid – Implication for a Reduction in Mammary Cancer Risk*, «Cancer Res.», 57, pp. 5067-5072.
- VAN DEN BERG J.J., COOK N.E., TRIBBLE D.L. (1995): *Reinvestigation of the antioxidant properties of conjugated linoleic acid*, «Lipids», 30, pp. 599-605.
- WANG L.H. and JOHNSON E.A. (1992): *Inhibition of Listeria monocytogenes by fatty acids and monoglycerides*, «Appl.Environ.Microbiol.», 58, pp. 624-629.
- WATKINS B.A. and SEIFERT M.F. (2000): *Conjugated linoleic acid and bone biology*, «Journal of the Am.Coll. Nutr.», 19, pp. 478S-486S.
- WHIGHAM L.D., COOK E.B., STAHL J.L., SABAN R., BJORLING D.E., PARIZA M.W., COOK M.E. (2001): *CLA reduces antigen-induced histamine and PGE(2) release from sensitized guinea pig tracheae*, «Am. J. Physiol.», 280, pp. R908-R912.

- WONG M.W., CHEW B.P., WONG T.S., HOSICK H.L., BOYLSTON T.D., SHULTZ T.D. (1997): *Effects of Dietary Conjugated Linoleic Acid on Lymphocyte Function and Growth of Mammary Tumors in Mice*, «Anticancer Res.», 17, pp. 987-993.
- ZAMBELL K.L., KEIM N.L., VAN LOAN M.D., GALE B., BENITO P., KELLEY D.S., NELSON G.J. (2000): *Conjugated linoleic acid supplementation in humans: Effects on body composition and energy expenditure*, «Lipids», 35, pp. 777-782.

PIERLORENZO SECCHIARI

CONCLUSIONI

Siamo giunti al termine di questa tornata di lavori, in cui è stata passata in rassegna la problematica relativa al contenuto di lipidi del latte e della carne dei ruminanti e al loro impatto sulla salute.

Diversamente da come quasi sempre accade, si è cercato di delineare il significato della presenza dei lipidi negli organismi animali, ed il ruolo che ha l'apporto con gli alimenti dei lipidi medesimi, limitandoci a descrivere la loro natura, le loro funzioni e i loro effetti positivi e negativi, quali componenti della nostra dieta.

Non voglio ripercorrere le relazioni che si sono succedute; desidero solo sottolineare che sono stati evidenziati due aspetti:

- anzitutto, mentre esistono delle componenti lipidiche ad effetto negativo sulla salute, quali alcuni acidi grassi saturi (laurico, miristico e palmitico) e l'iper-apporto con la dieta di colesterolo in soggetti molto sensibili, cioè caratterizzati da una tendenza all'ipercolesterolemia di origine endogena, si hanno anche frazioni lipidiche che presentano qualità positive, come gli acidi grassi essenziali, soprattutto gli n-3 (DHA ed EPA), i CLA, di cui sono stati evidenziati gli effetti importanti riguardo a molte gravi patologie e l'acido lipoico, uno dei più potenti antiossidanti naturali, che rappresentano il rovescio della medaglia, rispetto alla tradizionale demonizzazione dei grassi di origine animale;
- in secondo luogo, è stato più volte ripetuto che, più che il giudizio sul singolo principio nutritivo, devono essere considerati l'effetto o gli effetti della dieta nel suo insieme: esistono comportamenti alimentari corretti e, al contrario errori dietetici, cioè diete in cui manca quella varietà di alimenti che favoriscono un equilibrio tra

principi nutritivi, che permette di utilizzare al meglio i fattori positivi degli alimenti stessi.

Queste sono, in sintesi, le indicazioni generali che derivano dai lavori presentati.

Ringrazio il Presidente dell'Accademia dei Georgofili, per averci permesso di organizzare questa lettura e per le calorose e amichevoli espressioni rivolteci in apertura dei lavori. Ringrazio poi i relatori, dott. M. Mele, dott.ssa A. Buccioni, prof. M. Antongiovanni, dott. S. Banni e mi congratulo per l'encomiabile livello delle loro relazioni.

Un particolare ringraziamento, infine, al pubblico, soprattutto al folto gruppo di giovani, ed ai colleghi che gentilmente sono venuti da sedi lontane: il prof. D. Matassino ed il prof. A. Mordenti.

Spero pertanto che questa tornata di letture sia stata degna del prestigio della nostra Accademia, cui formulo l'augurio di un'attività sempre più proficua.

Finito di stampare
nel mese di luglio 2002
dalla TIPOGRAFIA ABC
SESTO F.NO - FIRENZE

ISSN 0367/4134

Direttore responsabile: prof. Sergio Orsi
Autorizzazione del Tribunale di Firenze n° 1056 del 30 Aprile 1956

