

# Über den saisonalen Verlauf von CLA in Alpbutter

Daniel Wechsler, Marius Collomb, Pius Eberhard und Robert Sieber, Agroscope Liebefeld-Posieux, Eidgenössische Forschungsanstalt für Nutztier- und Milchwirtschaft (ALP), CH-3003 Bern  
Auskünfte: Daniel Wechsler, E-Mail: daniel.wechsler@alp.admin.ch, Fax +41 (0)31 323 82 27, Tel. +41 (0)31 323 89 00

## Zusammenfassung

Verschiedene Arbeiten haben die Bedeutung der konjugierten Linolsäuren (CLA) für die Ernährung wie auch die Erhöhung der CLA-Gehalte in Milchprodukten in Abhängigkeit von der Höhenlage der Weiden aufgezeigt. Die vorliegende Arbeit erweitert unsere Kenntnisse über den Einfluss der Alpsaison auf die CLA-Konzentrationen von alpinen Milchprodukten. Die CLA-Konzentrationen steigen zu Beginn der Saison an, schwanken nur wenig während der Saison und sinken gegen Saisonende wieder ab.

Konjugierte Linolsäuren sind wichtige Bestandteile von Lebensmitteln tierischer Herkunft und können auf Grund ihrer verschiedenen physiologischen Eigenschaften für die menschliche Ernährung von grossem Interesse sein. Bei diesen Fettsäuren handelt es sich um isomere Formen der Linolsäure (C18:2 *cis9cis12* = *c9c12*), die sich von Letzterer durch die Position der Doppelbindungen unterscheiden. Das Isomer C18:2 *c9t11* (Rumensäure) ist mit einem Anteil von 80 bis 90 % die dominierende Form innerhalb der CLA.

## Physiologische Bedeutung der CLA

Mitte der 80er Jahre wurde von Ha *et al.* (1987) erstmals über die antikanzerogene Wirkung von CLA berichtet. Seither sind viele Publikationen erschienen, die sich mit der Synthese, Analytik und der biologischen Aktivität von CLA *in vitro* und *in vivo* befassen. Anfänglich wurden die physiologischen Wirkungen von CLA vorwiegend mit der dominierenden Rumensäure oder mit dem Sammelbegriff CLA in Verbindung gebracht. Doch kann die physiologische Wirkung der verschiedenen CLA-Isomere

sehr unterschiedlich sein (Banni *et al.* 2002) und somit sind spezifische Untersuchungen zur biologischen Aktivität der einzelnen Isomere unerlässlich. Nach diversen Tierstudien und klinischen Versuchen könnten CLA für die menschliche Gesundheit von Nutzen sein und beispielsweise bei der Kontrolle der Körperfettzunahme, der Stärkung des Immunsystems, der Reduktion von Entzündungen oder bei Diabetes eine Rolle spielen. Weiter wurden für CLA auch im Zusammenhang mit Atherosklerose, Bluthochdruck und Asthma gesundheitsfördernde Effekte postuliert (Pariza 2004). Bisher ist es aber nicht gelungen, die vielfältigen positiven Effekte von CLA auf biochemischer Basis auch mechanistisch zu erklären. Die bisher identifizierten physiologischen Effekte von CLA werden praktisch ausnahmslos auf die Wirkung der beiden Isomere C18:2 *c9t11* und C18:2 *t10c12* zurückgeführt. Das Hauptproblem bei der Untersuchung der Wirkung einzelner CLA-Isomere besteht nach wie vor darin, dass reine CLA-Isomere bis heute kaum verfügbar sind. In den bisherigen Studien konnte jeweils nur

mit CLA-Präparaten gearbeitet werden, in denen jeweils ein Isomer die Verteilung der CLA-Isomere dominierte. Die vorliegenden Studien mit diesen beiden Isomeren führen zum Schluss, dass sie einzeln sowie in Kombination unterschiedliche biologische Wirkungen erzeugen. Das Isomer C18:2 *t10c12* ist beispielsweise für die Reduktion der Körperfettzunahme wichtig, während C18:2 *c9t11* in einem Tierversuch mit Nagetieren das Wachstum und die Futtermittelverwertung positiv beeinflusste. Eine weitere Studie mit Nagern ergab, dass beide CLA-Isomere bei Brustkrebs einen gleichwertigen Effekt bei der Verhinderung einer chemisch induzierten Karzinogenese hatten. Die vielfältigen Wirkungen lassen den Schluss zu, dass CLA in zahlreiche Stoffwechselprozesse mit Signalfunktion eingreifen. Die derzeit plausibelste Erklärung zur Körperfett senkenden Wirkung des Isomers C18:2 *t10c12* ist, dass dieses Isomer die Aktivität der Lipoproteinlipase in Fettzellen hemmt und dadurch die Aufnahme von Lipiden reduziert. In vielen Tierstudien wurde durch die Verfütterung von CLA eine deutliche Reduktion des Körperfettes beobachtet, wobei das Körpergewicht nicht signifikant reduziert wurde. Im weiteren begünstigt dieses Isomer in den meisten Fällen nicht den Abbau von bestehendem Körperfett, sondern reduziert eher den Aufbau von zusätzlichem Körperfett. Humanstudien mit diesem CLA-Isomer lassen einen ähnlichen Effekt beim Men-

schen vermuten. Die potenzielle Supplementierung von Nahrungsmitteln mit CLA hat auch Fragen zur Unbedenklichkeit dieser natürlich vorkommenden Fettsäuren aufgeworfen. Die bisherigen Daten von Tierversuchen erlauben den Schluss, dass auch eine ausgeprägte Aufnahme von CLA kaum nachteilige Wirkungen hat. Obwohl die bisherigen Studien viele interessante Hinweise auf die Existenz einer physiologischen Wirkung von CLA bei Mensch und Tier ergeben haben, kann das gesundheitsfördernde Potenzial von CLA-Isomeren nicht abschliessend beurteilt werden (Gnädig *et al.* 2003, Pariza 2004).

### CLA im Milchfett

CLA finden sich vor allem in Milch, Milchprodukten und Fleisch von Wiederkäuern (Dufey 1999; Sieber 1995). In deren Pansen entstehen durch die Wirkung von Mikroorganismen aus ungesättigten Fettsäuren (Öl-, Linol- und  $\alpha$ -Linolensäure) des Futters konjugierte Linolsäuren, die ihrerseits zu *trans*-Octadecensäuren (unter anderem *trans*-Vaccensäure, C18:1 *t*11) biohydriert werden. In der Milchdrüse werden diese Fettsäuren durch die  $\Delta^9$ -Desaturase dann wieder in verschiedene CLA-Isomere umgewandelt. Etwa 64 % der in der Milch ausgeschiedenen CLA werden endogen in der Milchdrüse gebildet (Grinari *et al.* 2000). Dabei zeigte sich nach Jahreis *et al.* (1997) eine starke lineare Korrelation zwischen dem Gehalt der Milch an

CLA (in diesem Falle CLA als C 18:2 *c*9*t*11 und *t*9*c*11) und an der *trans*-Vaccensäure.

Der CLA-Gehalt der Milch kann beispielsweise über die Fütterung von frischem Gras, von Ölen und Ölsaaten, Fischmehl oder Fischöl beeinflusst werden (Sieber *et al.* 2004). In eigenen Untersuchungen haben wir gezeigt, dass die Verfütterung von Ölsaaten zu unterschiedlichen CLA-Gehalten in der Milch führte. Bei Verfütterung der Kontrolldiät (Heu *ad libitum* und 15 kg Rüben) wurden 0,51 g *c*9*t*11-CLA/100 g Fett gefunden, mit einem Zusatz von 1 kg Leinsamen oder 1 kg Rapssamen war der Gehalt praktisch gleich (0,53 und 0,62), mit 1,4 kg Leinsamen oder 1 kg Sonnenblumenkernen erhöhte er sich auf 0,82 g und mit 1,4 kg Sonnenblumenkernen gar auf 1,71 g/100 g Fett (Collomb *et al.* 2004b). Die Fütterung dieser Ölsaaten veränderte auch die Zusammensetzung der verschiedenen CLA-Isomeren (Collomb *et al.* 2004a).

### CLA in Alpenmilch

In früheren Untersuchungen über die Zusammensetzung der Milch von Kühen, die im Tal- (600 m), Berg- (1100 m) und Alpgebiet (1300-2100 m) gehalten wurden, konnten wir feststellen, dass sich die Zusammensetzung des Milchfettes und der Gehalt an CLA mit zunehmender Höhe positiv veränderten. So wurde in diesen Milchproben ein Gesamt-CLA-Gehalt von 0,87 (0,71-1,08), 1,61 (1,32-1,86) und 2,36 (1,92-

2,87)g/100g Milchfett gefunden (Collomb *et al.* 2001; 2002a). Die Ergebnisse dieser Studie wurden anhand von Untersuchungen des Fettsäuremusters von Alpenmilch aus verschiedenen Regionen überprüft (Eyer *et al.* 2002). Die festgestellten Unterschiede konnten mit der spezifischen Zusammensetzung der Weiden an den drei Standorten erklärt werden. Auf den Weiden der Alpen wurde eine Vielzahl verschiedener Pflanzen nachgewiesen, während auf den Wiesen des Talgebietes etwa sechs Pflanzen dominierten (Collomb *et al.* 2002b). Unsere Beobachtungen wurden auch in der Arbeit von Hauswirth *et al.* (2004) bestätigt. Diese Autoren fanden in Alpkäse aus dem Berner Oberland 2,5 g und in Alpkäse mit partieller Silagefütterung 2,3 g *c*9*t*11-CLA/100 g Fettsäuremethylester (FAME), während es in Käse aus der Milch von mit Leinsamen-Supplementen gefütterten Kühen 1,4 und in Emmentaler 1,5 g *c*9*t*11-CLA/100 g FAME waren. Nach Leiber *et al.* (2004) stehen folgende Faktoren als Ursache für den erhöhten Gehalt an CLA und mehrfach ungesättigten Fettsäuren in Alpmilchfett zur Diskussion: reine Grundfütterationen, Qualität des alpinen Grundfutters, Höhenlage, Energiemangel (reduzierte mikrobielle Tätigkeit im Pansen, Mobilisierung von Körperfett, reduzierte Biohydrierung der aus dem Futter stammenden  $\alpha$ -Linolensäure) und Hemmung der Biohydrierung durch sekundäre Pflanzeninhaltsstoffe.

### CLA in Alpbutter während der Alpsaison 2003

Die untersuchten Butterproben stammen von der Muttner Alp, Gemeinde Mutten im Domleschg (Kanton Graubünden). Diese Alp befindet sich auf einer Höhe von 2126 m ü. M. und die dazugehörigen Weiden reichen von etwa 2000 bis 2300 m. 42 Kühe der Rasse Braunvieh kamen am 20. Juni 2003 vom Maiensäss, auf dem nicht gebuttert wird, auf die Muttner Alp, die sie bereits anfangs September wegen des

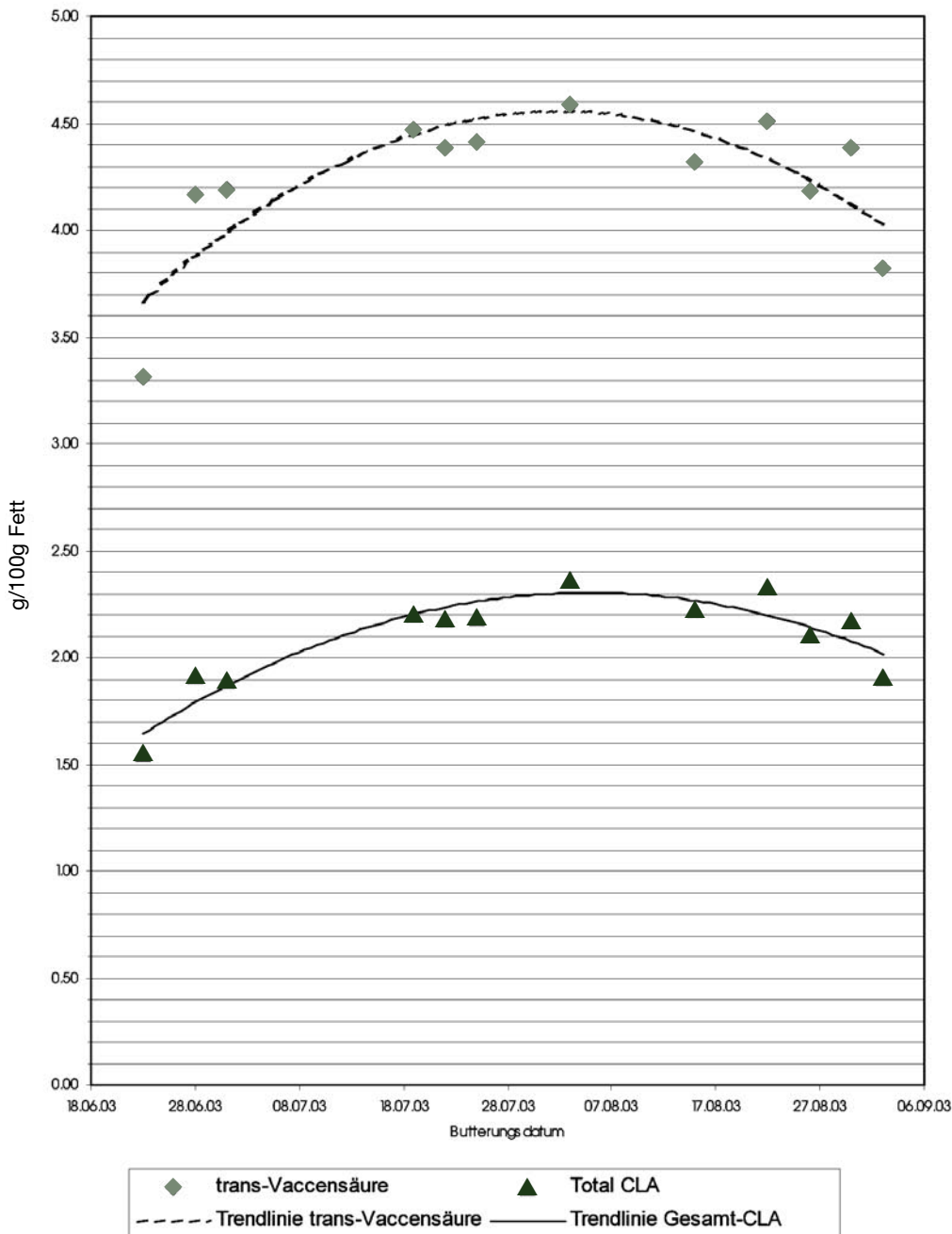
durch die Sommerhitze und Trockenheit bedingten Grasmangels wieder verlassen mussten. Während der ganzen Alpsaison wurde kein Heu zugefüttert. Die meisten Kühe waren in der zweiten bis fünften Laktation und befanden sich in der Mitte der Laktation. Die Bestimmung der CLA und ihrer Isomere wurde mit Hilfe der Gas- und der Hochdruck-Flüssigkeitschromatographie mit Silberionen ( $Ag^+$ ) durchgeführt (Collomb und Bühler 2000; Collomb *et al.* 2004a).

### Gesamt-CLA

Die erste Probe von der auf dem Alpbetrieb hergestellten Butter wurde drei Tage nach dem Alpaufzug am 23.6.03 erhoben. Im Verlauf der Saison wurden in unregelmässigen Abständen bis zum 2. September 2003 insgesamt elf weitere Butterproben genommen und analysiert. Der Gesamt-CLA-Gehalt erhöhte sich sukzessive von 1,55 auf bis zu 2,36 g/100 g und sank am Ende der Saison wiederum auf ein Niveau von 1,91 g/100g ab (Abb. 1). Wie bereits diskutiert, ist der Gehalt der *trans*-Vaccensäure für den CLA-Gehalt der Milch mitbestimmend. In der Milch zeigte sich anfangs ein deutlicher Anstieg der *trans*-Vaccensäure und gegen Ende der Alpsaison wurde eine deutliche Abnahme beobachtet.

Über den jährlichen Verlauf des CLA-Gehaltes in der Milch liegen nur wenige Daten vor. Jahreis *et al.* (1997) haben bei drei Gruppen von Kühen, die unterschiedlich gehalten wurden, während eines Jahres den CLA-Gehalt bestimmt. Dabei schwankte der Gesamt-CLA-Gehalt in der Herde, die während des ganzen Jahres im Stall gehalten und mit Mais-Silage und Getreidezugaben gefüttert wurde, zwischen 0,2 und 0,4 g/100 g FAME. In der Herde, die während des Sommers auf der Weide gehalten und in den anderen Monaten mit Mais- und Grassilage gefüttert wurde, lag der CLA-Gehalt während der Sommermonate über 0,6 und in den anderen Monaten mehrheitlich unter 0,6 g/100 g FAME. In der Herde eines Bio-Betriebes lag ein deutlich anderer Verlauf vor: langsamer Anstieg von 0,6 (anfangs Jahr) auf bis zu 1,2 g/100 g FAME gegen Ende September mit einem ersten Peak im März und einem zweiten im Juli und starke Abnahme auf 0,8 g/100 g FAME anfangs Winter. Auch die Milch von Schafen und

Abb. 1. Verlauf von *trans*-Vaccensäure und Gesamt-CLA (g/100 g Fett) in Alpbutter während der Alpsaison 2003.



Ziegen wies ähnliche saisonale Schwankungen der CLA wie Kuhmilch auf, wobei die Werte der Schaf- und Kuhmilch im gleichen Bereich und diejenigen der Ziegenmilch etwa um einen Drittel tiefer lagen (Jahreis *et al.* 1999).

### CLA-Isomere

In den zwölf Alpbutterproben wurden mit Hilfe der Ag<sup>+</sup>-HPLC zusätzlich die Verteilung und die Gehalte der einzelnen CLA-Isomere – insgesamt 14 – bestimmt. Dabei bestätigte sich, dass das Isomer *c9t11* dominierte, gefolgt von den Isomeren *t11c13*, *t7c9*, *t11t13* und *t8c10* (Tab. 1). Die bedeutendsten Veränderungen wurden in den ersten vier Wochen beim mengenmässig am stärksten vorkommenden Isomer *c9t11* festgestellt. Nach diesem Zeitpunkt bewegte sich dessen Gehalt zwischen 1,8 und 2,0 g/100 g Fett. Auffallend zeichnen sich im Verlauf der Alpsaison auch Unterschiede bei den CLA-Isomeren *t11c13*, *t7c9* und *t8c10* ab, wobei der Gehalt der letzten beiden Isomere Ende Juli/Anfang August am höchsten war. In unseren Untersuchungen

zum Einfluss verschiedener Ölsaaten auf den Gehalt an Fettsäuren (Collomb *et al.* 2004b) haben wir ebenfalls die verschiedenen CLA-Isomere bestimmt. Bei allen verfütterten Ölsaaten war das CLA-Isomere *c9t11* am stärksten vertreten. Nach Zugabe von 1,4 kg Sonnenblumensamen folgten *t7c9*, *t8c10*, *t10t12* und *t9t11*, während nach der Verfütterung von 1,4 kg Leinsamen die Isomere *t7c9*, *t11c13* und *t11t13* etwa gleich stark vertreten waren. Diese ungleiche Verteilung ist auf die unterschiedliche Zusammensetzung dieser Ölsaaten zurückzuführen: Sonnenblumenkerne sind reich an Ölsäure (C18:1 *c9*) und Linolsäure, Leinsamen enthalten dagegen neben diesen Fettsäuren mehrheitlich  $\alpha$ -Linolensäure (C18:3, *c9c12c15*). Es kann daher gefolgert werden, dass aus der Linolsäure vor allem *c9t11* und aus der  $\alpha$ -Linolensäure neben *c9t11* auch *t11c13* entstehen können (Collomb *et al.* 2004a).

### Schlussfolgerung

Für Marker, die über die Herkunft eines Lebensmittels Auskunft geben, besteht ein gewis-

ses Interesse. CLA haben sich für Produkte aus den Alpengebieten in dieser Hinsicht als geeignete Inhaltsstoffe erwiesen.

### Literatur

- Banni S., Murru E., Angioni E., Carta G. and Melis M.P., 2002. Conjugated linoleic acid isomers (CLA): good for everything? *Sci. Aliments* **22**, 371-380.
- Collomb M. et Bühler T., 2000. Analyse de la composition en acides gras de la graisse de lait, I. Optimisation et validation d'une méthode générale à haute résolution. *Trav. chim. alimen. hyg.* **91**, 306-332.
- Collomb M., Bütikofer U., Sieber R., Bosset J.O. and Jeangros B., 2001. Conjugated linoleic acid and trans fatty acid composition of cows' milk fat produced in lowlands and highlands. *J. Dairy Res.* **68**, 519-523.
- Collomb M., Bütikofer U., Sieber R., Jeangros B. and Bosset J.O., 2002a. Composition of fatty acids in cow's milk fat produced in the lowlands, mountains and highlands of Switzerland using high-resolution gas chromatography. *Int. Dairy J.* **12**, 649-659.

**Tabelle 1. Saisonaler Verlauf der CLA-Isomere in Alpbutter während der Alpsaison 2003 (g/100 g Fett)**

	23.6.	28.6.	1.7.	19.7.	22.7.	25.7.	3.8.	15.8.	22.8.	26.8.	30.8.	2.9.
C18:2 <i>t12t14</i>	0,01	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02
C18:2 <i>t11t13</i>	0,03	0,03	0,03	0,04	0,03	0,03	0,03	0,03	0,03	0,03	0,03	0,03
C18:2 <i>t10t12</i>	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01
C18:2 <i>t9t11</i>	0,01	0,01	0,01	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02
C18:2 <i>t8t10</i>	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01
C18:2 <i>t7t9</i>	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01
C18:2 <i>t6t8</i>	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01
C18:2 <i>c / t 12, 14</i>	<0,01	<0,01	<0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01
C18:2 <i>t11c13</i>	0,10	0,14	0,14	0,17	0,15	0,14	0,17	0,15	0,17	0,14	0,14	0,12
C18:2 <i>c11t13</i>	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01
C18:2 <i>t10c12</i>	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01
C18:2 <i>c9t11</i>	1,30	1,62	1,60	1,85	1,85	1,81	1,96	1,89	1,97	1,78	1,86	1,62
C18:2 <i>t8c10</i>	0,03	0,03	0,03	0,03	0,03	0,06	0,05	0,03	0,04	0,03	0,03	0,03
C18:2 <i>t7c9</i>	0,04	0,04	0,04	0,05	0,05	0,08	0,08	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05
Summe CLA	1,55	1,91	1,89	2,20	2,18	2,18	2,36	2,22	2,33	2,10	2,17	1,91

- Collomb M., Bütikofer U., Sieber R., Jeangros B. and Bosset J.O., 2002b. Correlation between fatty acids in cows' milk fat produced in the Lowlands, Mountains and Highlands of Switzerland and botanical composition of the fodder. *Int. Dairy J.* **12**, 661-666.
- Collomb M., Sieber R. and Bütikofer U., 2004a. CLA isomers in milk fat from cows fed diets with high levels of unsaturated fatty acids. *Lipids* **39**, 355-364.
- Collomb M., Sollberger H., Bütikofer U., Sieber R., Stoll W. and Schaeren W., 2004b. Impact of a basal diet of hay and fodder beet supplemented with rapeseed, linseed and sunflowerseed on the fatty acid composition of milk fat. *Int. Dairy J.* **14**, 549-559.
- Dufey P.A., 1999. Fleisch ist eine CLA-Nahrungsquelle. *Agrarforschung* **6**, 177-180.
- Eyer H., Collomb M. und Sieber R., 2002. Alpsommerung führt zu wertvollem Milchlakt. *Agrarforschung* **9**, 50-53.
- Gnädig S., Xue Y., Berdeaux O., Chardigny J.M. and Sébédio J.L., 2003. Conjugated linoleic acid (CLA) as a functional ingredient. In: Functional dairy products, (Ed. Mattila-Sandholm T., Saarela M.). Woodhead Publishing Cambridge, 263-298.
- Griinari J.M., Corl B.A., Lacy S.H., Chouinard P.Y., Nurmela K.V.V. and Bauman D.E., 2000. Conjugated linoleic acid is synthesized endogenously in lactating dairy cows by  $\Delta^9$ -desaturase. *J. Nutr.* **130**, 2285-2291.
- Ha Y.L., Grimm N.K. and Pariza M.W., 1987. Anticarcinogens from fried ground beef: heat-altered derivatives of linoleic acid. *Carcinogenesis* **8**, 1881-1887.
- Hauswirth C.B., Scheeder M.R.L. and Beer J.H., 2004. High  $\omega$ -3 fatty acid content in Alpine cheese. The basis for an Alpine paradox. *Circulation* **109**, 103-107.
- Jahreis G., Fritsche J., Möckel P., Schone F., Möller U. and 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**, 1541-1549.
- Jahreis G., Fritsche J. and Steinhart H., 1997. Conjugated linoleic acid in milk fat: High variation depending on production system. *Nutr. Res.* **17**, 1479-1484.
- Kraft J., Collomb M., Möckel P., Sieber R. and Jahreis G., 2003. Differences in CLA isomer distribution of cow's milk lipids. *Lipids* **38**, 657-664.
- Leiber F., Scheeder M.R.L., Wettstein H.-R., Kreuzer M., 2004. Die besondere Fettzusammensetzung der Alpmilch: was sind die Ursachen? Schriftenreihe Institut für Nutztierwissenschaften, ETH Zürich, **25**, 69-80.
- Pariza M.W., 2004. Perspective on the safety and effectiveness of conjugated linoleic acid. *Am. J. Clin. Nutr.* **79**, 1132S-1136S.
- Sieber R., 1995. Konjugierte Linolsäure in Lebensmitteln: eine Übersicht. *Ernährung* **19**, 265-270.
- Sieber R., Collomb M., Aeschlimann A., Jelen P. and Eyer H., 2004. Impact of microbial cultures on conjugated linoleic acid in dairy products - a review. *Int. Dairy J.* **14**, 1-15.

## RÉSUMÉ

### Variation saisonnière des concentrations en acides linoléiques conjugués (CLA) dans le beurre alpin

Différents travaux ont démontré l'importance nutritionnelle des acides linoléiques conjugués ainsi que l'augmentation de leurs concentrations dans les produits laitiers en fonction de l'altitude des pâturages. Le présent travail complète nos connaissances quant à l'influence de l'ensemble de la saison estivale sur les concentrations en CLA dans les produits laitiers alpins. On constate une augmentation des concentrations en CLA dès le début de la saison, une variation relativement faible durant l'ensemble de la saison et une diminution de ces concentrations en fin de saison estivale.

## SUMMARY

### Seasonal variation of conjugated linoleic acids (CLA) in alpine butter

Various studies have shown the nutritional importance of conjugated linoleic acids (CLA) as well as an increase in their concentration in dairy products as a function of the pasture altitude. The present study complements our knowledge on the influence of the summer season on the concentration of CLA in alpine dairy products. It was found that there was an increase in the concentration of CLA at the beginning of the season, a relatively small variation during the whole season followed by a decrease in these concentrations at the end of the summer.

**Key words:** alpine butter, season, conjugated linoleic acid, CLA