

## WPŁYW PRZECHOWYWANIA NA ZAWARTOŚĆ SPRĘŻONEGO KWASU LINOLOWEGO (CLA) I INNYCH IZOMERÓW TRANS KWASÓW TŁUSZCZOWYCH W JOGURTACH

*Przedmiotem badań była ocena wpływu czasu przechowywania jogurtów na zawartość kwasu *cis9trans11* C18:2(CLA) oraz izomerów *trans* kwasu C18:1 i C18:2 w tłuszczu wydzielonym z tych jogurtów. Analizie poddano świeżo wyprodukowane jogurty oraz jogurty przechowywane w warunkach chłodniczych, temperatura  $5 \pm 1^\circ\text{C}$  przez 21 dni. Analizy przeprowadzono metodą chromatografii gazowej. Jogurty badano po 8, 16 i 21 dniach przechowywania.*

*Przeprowadzone badania wykazały, że czas przechowywania jogurtów istotnie wpływał na obniżenie zawartości sprzężonego kwasu linolowego *cis9trans11* C18:2 (CLA) oraz na obniżenie zawartości izomerów *trans* kwasu C18:1 i kwasu C18:2 w tłuszczu wydzielonym z analizowanych jogurtów.*

**Słowa kluczowe:** jogurt, sprzężony kwas linolowy, izomery *trans*, czas przechowywania.

### WSTĘP

Terminem „kwas linolowy o wiązaniach sprzężonych (CLA)” określa się grupę pozycyjnych i geometrycznych izomerów kwasu linolowego (C18:2), w których dwa wiązania podwójne oddzielone są tylko jednym wiązaniem pojedynczym. W tej grupie izomerów, w tłuszczu przeżuwanym w największej ilości występuje kwas *cis9trans11* C18:2, który w tłuszczu mleka stanowi od 75 do ponad 90% sumy izomerów kwasu C18:2 o wiązaniach sprzężonych [8, 12]. Kwas *cis9trans11* C18:2 wykazuje szereg pozytywnych dla zdrowia właściwości, m.in. przeciwnowotworowe, przeciwmiażdżycowe, przeciwutleniające i przeciwzapalne [9, 10, 11, 13]. Głównym naturalnym źródłem CLA w diecie człowieka jest mleko i jego przetwory. Średnia zawartość CLA w mleku krów waha się w przedziale od 3 do 6 mg/g tłuszczu [5]. W produktach mleczarskich zawartość sprzężonego kwasu linolowego kształtuje się w przedziale od 2,9 do 11,3 mg/g tłuszczu [18]. Wyższa zawartość CLA w tych produktach może wynikać z faktu, że niektóre bakterie fermentacji mlekowej (zależnie m.in. od ich ilości, czasu działania i zastosowanych warunków inkubacji) mają zdolność do syntezy CLA, dzięki czemu mogą przyczyniać się do wzrostu jego poziomu w produktach mleczarskich (serach czy fermentowanych produktach mleczarskich) [2, 4, 6, 16].

Celem badań była ocena wpływu czasu przechowywania jogurtów na zawartość sprzężonego kwasu linolowego *cis9trans11* C18:2 (CLA) oraz izomerów *trans* kwasu C18:1 i C18:2 w tłuszczu wydzielonym z tych jogurtów.

## 1. MATERIAŁ I METODY BADAŃ

Materiał badany stanowiły jogurty świeże i jogurty przechowywane w warunkach chłodniczych, temperatura  $5 \pm 1^\circ\text{C}$ , przez 21 dni. Analizy przeprowadzono po 8, 16 i 21 dniach przechowywania. Za każdym razem do badań analitycznych pobierano po cztery próbki jogurtów. Wszystkie analizy wykonywano w dwóch równoległych powtórzeniach. Objęte badaniem jogurty zostały wyprodukowane w Centrum Edukacyjno-Badawczym Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie. Surowcem do ich produkcji było mleko zbiorcze pochodzące z rejonu Olsztyna, dostarczone cysterną na halę technologiczną. Jogurty wyprodukowano metodą termostatową. Do ich produkcji zastosowano kulturę starterową firmy Chr.Hansen YC-X11.

Tłuszcz z badanych jogurtów wydzielano za pomocą metody Folcha [1].

Estry metylowe kwasów tłuszczowych przygotowano według metody IDF, stosując metanolowy roztwór KOH [3].

Skład kwasów tłuszczowych oznaczano metodą chromatografii gazowej (GC), stosując chromatograf gazowy HP6890 z detektorem płomieniowo-jonizacyjnym i 100-metrową kolumną kapilarną z fazą CP Sil 88. Identyfikację pików kwasów tłuszczowych i izomerów *trans* kwasów tłuszczowych prowadzono przez porównanie z czasami retencji wzorców estrów metylowych kwasów tłuszczowych firmy Sigma-Aldrich i Supelco oraz na podstawie danych literaturowych [7]. Udział sprzężonego kwasu linolowego i oznaczonych izomerów *trans* kwasu C18:1 oraz oznaczonych izomerów *trans* kwasu C18:2 obliczano względem wprowadzanego standardu (estru metylowego kwasu C21:0, czystość ~99%, nr katalogowy H3265, zakupiony w firmie Sigma-Aldrich). Wszystkie analizy wykonywano w dwóch równoległych powtórzeniach. Obliczenia statystyczne wykonano w programie STATISTICA 10.

## 2. WYNIKI BADAŃ I Dyskusja

Wyniki pomiarów zawartości sprzężonego kwasu linolowego *cis9trans11* C18:2 oraz zawartości izomerów *trans* kwasu C18:1 i kwasu C18:2 w badanych jogurtach świeżych i przechowywanych wykazały, że średnia zawartość CLA w tłuszczu wydzielonym z objętych badaniem świeżych jogurtów wynosiła 5,24 mg/g tłuszczu. Ilość tego kwasu w jogurtach badanych po 8 dniach przechowywania była istotnie niższa niż w jogurtach świeżych i wynosiła 3,01 mg/g tłuszczu. Dłuższy czas przechowywania wpływał na dalsze obniżanie zawartości

tego kwasu, do wartości 2,94 mg/g tłuszczu w jogurtach badanych po 21 dniach przechowywania (tab. 1).

Spadek zawartości kwasu *cis9trans11* C18:2 w jogurtach z mleka krowiego, przechowywanych 14 dni w temperaturze 5°C, stwierdzili też Serafeimidou i inni [14]. W jogurtach badanych przez tych autorów w pierwszym dniu przechowywania CLA było na poziomie 0,41 g/100 g tłuszczu. W jogurtach badanych po 7 dniach przechowywania ilość sprzężonego kwasu linolowego wynosiła 0,45 g/100 g tłuszczu, a w jogurtach badanych po 14 dniach przechowywania – 0,24 g/100 g tłuszczu.

**Tabela 1.** Zawartość CLA oraz innych izomerów *trans* kwasów tłuszczowych w jogurtach świeżych i przechowywanych (mg/g tłuszczu)

**Table 1.** The content of CLA and other *trans*-fatty acids in fresh and stored yoghurts (mg/g of fat)

| Izomery <i>trans</i>                     | Jogurty                              |   |  |  |
|--|--------------------------------------|---|--|--|
|  | Świeże<br>(n = 4)<br>$\bar{x} \pm s$ | Po 8 dniach<br>(n = 4)<br>$\bar{x} \pm s$ | Po 16 dniach<br>(n = 4)<br>$\bar{x} \pm s$ | Po 21 dniach<br>(n = 4)<br>$\bar{x} \pm s$ |
| <b><i>cis9trans11</i><br/>C18:2(CLA)</b> | <b>5,24<sup>a</sup> ±0,07</b>        | <b>3,01<sup>b</sup> ±0,09</b>             | <b>2,98<sup>b</sup> ±0,07</b>              | <b>2,94<sup>b</sup> ±0,05</b>              |
| <i>t6 - t9</i>                           | 4,76 <sup>a</sup> ±0,09              | 2,76 <sup>b</sup> ±0,12                   | 2,73 <sup>b</sup> ±0,03                    | 2,64 <sup>b</sup> ±0,05                    |
| <i>t10 + t11</i>                         | 14,53 <sup>a</sup> ±0,10             | 8,48 <sup>b</sup> ±0,26                   | 8,31 <sup>b</sup> ±0,11                    | 8,23 <sup>b</sup> ±0,13                    |
| <i>t12</i> C18:1                         | 2,91 <sup>a</sup> ±0,03              | 1,68 <sup>b</sup> ±0,06                   | 1,65 <sup>b</sup> ±0,03                    | 1,62 <sup>b</sup> ±0,02                    |
| <i>t16</i> C18:1                         | 2,86 <sup>a</sup> ±0,07              | 1,63 <sup>b</sup> ±0,07                   | 1,64 <sup>b</sup> ±0,01                    | 1,61 <sup>b</sup> ±0,01                    |
| <b>Σ <i>trans</i> C18:1</b>              | <b>25,06<sup>a</sup> ±0,14</b>       | <b>14,54<sup>b</sup> ±0,50</b>            | <b>14,33<sup>b</sup> ±0,18</b>             | <b>14,10<sup>b</sup> ±0,20</b>             |
| <i>c9 t13</i>                            | 1,90 <sup>a</sup> ±0,07              | 1,05 <sup>b</sup> ±0,05                   | 1,09 <sup>b</sup> ±0,05                    | 1,08 <sup>b</sup> ±0,02                    |
| <i>c9 t12</i>                            | 3,00 <sup>a</sup> ±0,10              | 1,83 <sup>b</sup> ±0,08                   | 1,66 <sup>c</sup> ±0,10                    | 1,62 <sup>c</sup> ±0,01                    |
| <i>t11 c15</i>                           | 1,08 <sup>a</sup> ±0,14              | 0,54 <sup>b</sup> ±0,10                   | 0,60 <sup>b</sup> ±0,15                    | 0,79 <sup>c</sup> ±0,14                    |
| <b>Σ <i>trans</i> C18:2</b>              | <b>5,97<sup>a</sup> ±0,14</b>        | <b>3,42<sup>b</sup> ±0,10</b>             | <b>3,35<sup>b</sup> ±0,24</b>              | <b>2,94<sup>b</sup> ±0,05</b>              |

Objaśnienia:  $\bar{x} \pm s$  – wartość średnia ± odchylenie standardowe; n – liczebność próbek, wartości średnie oznaczone różną literą w wierszach różnią się statystycznie istotnie ( $p \leq 0,05$ ).

Odwrotne tendencje cytowani autorzy zaobserwowali w jogurtach z mleka owczego. Zawartość CLA w jogurtach badanych w pierwszym dniu przechowywania wynosiła 0,52 g/100 g tłuszczu, w jogurtach badanych w 7. dniu przechowywania była na poziomie 0,47 g/100 g tłuszczu. Wyższą zawartość kwasu *cis9trans11* C18:2, wynoszącą 0,76 g/100 g tłuszczu, autorzy stwierdzili w jogurtach badanych w 14. dniu przechowywania. Niższe zawartości CLA w przechowywanych mlecznych napojach fermentowanych, wyprodukowanych przy udziale różnych kultur starterowych, zaobserwowali też Domagała i inni [2]. Przeprowadzone przez cytowanych autorów badania wykazały, że fermentowane napoje mleczarskie analizowane po 14 dniach przechowywania w temperaturze 5–8°C charakteryzowały się niższą zawartością CLA niż napoje świeże. Obserwowany spadek zawartości CLA

w przechowywanych produktach mleczarskich, według niektórych autorów, może być wynikiem reakcji utleniających, które są przyczyną niszczenia sprzężonego układu wiązań podwójnych, powodując w ten sposób obniżanie ilości CLA w przechowywanych produktach [15, 17].

Zawartość oznaczonych izomerów *trans* kwasu C18:1 oraz izomerów *trans* kwasu C18:2 też ulegała obniżeniu podczas przechowywania. W świeżych jogurtach sumaryczna zawartość izomerów *trans* kwasu C18:1 wynosiła 25,06 mg/g tłuszczu, a izomerów *trans* kwasu C18:2 – 5,97 mg/g tłuszczu. W tłuszczu wydzielonym z jogurtów analizowanych po 8 dniach przechowywania stwierdzono istotnie niższe zawartości sumy tych izomerów. Udział izomerów *trans* kwasu C18:1 obniżył się do 14,54 mg/g tłuszczu, a izomerów *trans* kwasu C18:2 – do 3,42 mg/g tłuszczu. Tłuszcz wydzielony z jogurtów po 16 i 21 dniach przechowywania charakteryzował się jeszcze niższą sumaryczną zawartością zarówno izomerów *trans* kwasu C18:1, jak i izomerów *trans* kwasu C18:2. Zmiany te nie były jednak istotne statystycznie (tab. 1).

## PODSUMOWANIE

Przeprowadzone badania wykazały, że czas przechowywania jogurtów istotnie wpływa na zawartość sprzężonego kwasu linolowego *cis9trans11* C18:2 (CLA) oraz na zawartość izomerów *trans* kwasu C18:1 i kwasu C18:2 w tłuszczu tych jogurtów. W analizowanych jogurtach najwyższą zawartość CLA oraz innych izomerów *trans* kwasów tłuszczowych stwierdzono w jogurtach świeżych. Przez cały okres chłodniczego przechowywania jogurtów obserwowano spadek zawartości tych izomerów. Najniższe zawartości CLA oraz innych izomerów *trans* kwasów tłuszczowych stwierdzono w tłuszczu jogurtów badanych po 21 dniach przechowywania.

## LITERATURA

1. Christie W.W., *Lipid analysis. Isolation, separation, identification and structural analysis of lipids*, Pergamon Press, Oxford, 1973, s. 39–40.
2. Domagała J., Sady M., Najgebauer-Lejko D., Czernicka M., Witeska I., *The content of conjugated linoleic acid (CLA) in cream fermented using different starter cultures*, *Biotechnology in Animal Husbandry*, 2009, 25(5–6), s. 745–751.
3. IDF standard 182:1999. *Milkfat: Preparation of fatty acid methyl esters*.
4. Jiang J., Björck L., Fondèn R., *Production of conjugated linoleic acid by dairy starter cultures*. *Journal of Applied Microbiology*, 1998, 85, s. 98–102.
5. Kelly L.M., Berry J.R., Dwyer J.M., Griinari J.M., Chouinard P.Y. et al., *Dietary fatty acid sources affect conjugated linoleic acid concentrations in milk from lactating dairy cows*, *Journal of Nutrition*, 1998, 128, s. 881–885.
6. Kim Y.J., Liu R.H., *Increase of conjugated linoleic acid content in milk by fermentation with lactic acid bacteria*, *Journal of Food Science*, 2002, 67(5), s. 1731–1737.

7. Kramer J.K.G., Blackadar C.B., Zhou J., *Evaluation of two GC columns (60-m SUPELCOWAX 10 and 100-m CP Sil 88) for analysis of milkfat with emphasis on CLA, 18:1, 18:2 and 18:3 isomers, and short- and long-chain FA*, *Lipids*, 2002, 37(8), s. 823–835.
8. Lin H., Boylston T.D., Chang M. J., Luedecke L.O., Shultz T.D., *Survey of the conjugated linoleic acid contents of dairy products*, *Journal of Dairy Science*, 1995, 78, s. 2358–2365.
9. Molquentin J., *Bioactive lipids naturally occurring in bovine milk*, *Nahrung* 1999, 43(3), s. 185–189.
10. Pariza M.W., *CLA, a new cancer inhibitor in dairy products*, *Bull. IDF*. 1991, 257, s. 29–30.
11. Parodi P., *Anti-cancer agents in milkfat*, *Aust. J. Dairy. Technol.*, 2003, 58(2), s. 114–118.
12. Precht D., Molquentin J., *Trans unsaturated fatty acids in bovine milk fat and dairy products*, *European Journal of Lipid Science and Technology*, 2000, 102, s. 635–639.
13. Przybojewska B., Rafalski H., *Kwasy tłuszczowe występujące w mleku a zdrowie człowieka. Sprzężony kwas linolowy (CLA)*, „Przegląd Mleczarski”, 2003, nr 5, s. 173–175.
14. Serafeimidou A., Zlatanov S., Kritikos G., Tourianis A., *Change of fatty acid profile, including conjugated linoleic acid (CLA) content, during refrigerated storage of yogurt made of cow and sheep milk*, *Journal of Food Composition and Analysis*, 2013, 31, s. 24–30.
15. Shantha N.C., Ram L.N., O’Leary J., Hicks C.L., Decker E.A., *Conjugated linoleic acid concentrations in dairy products as affected by processing and storage*, *Journal Food Science*, 1995, 60, s. 695–697.
16. Sieber R., Collomb M., Aeschlimann A., Jelen P., Eyer H., *Impact of microbial cultures on conjugated linoleic acid in dairy products – a review*, *International Dairy Journal*, 2004, 14, s. 1–15.
17. Yang L. Leung L.K., Huang Y., Chen Z.Y., *Oxidative stability of conjugated linoleic acid isomers*, *Journal Agric. Food Chem.*, 2000, 48, s. 3072–3076.
18. Żebrowska A., Banczar G., Molik E., *Właściwości prozdrowotne tłuszczu mlekowego*, *Wiadomości Zootechniczne*, R. XLVII, 2009, nr 2, s. 19–23.

## THE EFFECT OF STORAGE ON THE CONTENT OF CONJUGATED LINOLEIC ACID (CLA) AND OTHER TRANS FATTY ACIDS IN YOGHURTS

### Summary

*The subject of the study was to evaluate the influence of storage time of yoghurts on the content of cis9trans11 C18:2 (CLA) acid and trans isomers of C18:1 and C18:2 in the fat extracted from these yoghurts. Analyzed were fresh yoghurts and yoghurts that were stored at a refrigeration temperature ( $5 \pm 1^\circ\text{C}$ ) for 21 days. The analyses were performed with the use of gas chromatography method. Yoghurts were analyzed after 8, 16 and 21 days of storage.*

*The study showed that the storage time of yoghurts had a significant effect on the decrease of content of conjugated linoleic acid cis9trans11 C18:2 (CLA) and the decrease of content of trans C18:1 and trans C18:2 isomers in fat separated from analyzed yoghurts.*

**Keywords:** yogurt, conjugated linoleic acid, trans isomers, storage time.