

JÓZEF KRZYŻEWSKI, NINA STRZAŁKOWSKA, EMILIA BAGNICKA,  
ARTUR JÓŻWIK, JAROSŁAW O. HORBAŃCZUK

## WPLYW ANTYOKSYDANTÓW ZAWARTYCH W TŁUSZCZU PASZ OBJĘTOŚCIOWYCH NA JAKOŚĆ MLEKA KRÓW

### Streszczenie

Antyoksydanty zawarte w paszach objętościowych, tj. tokoferole i karotenoidy, odgrywają istotną rolę w pokryciu zapotrzebowania krów mlecznych na karoten oraz witaminy A i E. W pracy dokonano przeglądu wyników badań naukowych, wykonanych w okresie ostatniej dekady, nad wpływem naturalnych antyoksydantów zawartych w tłuszczu pasz objętościowych na potencjał oksydacyjny mleka i zawartość w nim składników funkcjonalnych. Z badań tych wynika, że istnieje możliwość produkcji mleka o zwiększonej zawartości nienasyconych kwasów tłuszczowych oraz substancji o charakterze antyoksydacyjnym (witamin A, E i  $\beta$ -karotenu) pod warunkiem żywienia krów paszami o dużej zawartości karotenoidów i tokoferoli. Wymienione antyoksydanty chronią zawarte w mleku nienasycone kwasy tłuszczowe przed niekorzystnymi procesami utleniania, zachowując jednocześnie ich wysoką aktywność biologiczną oraz odpowiedni smak i zapach mleka. Zawartość karotenoidów i tokoferoli w paszach objętościowych oraz wysokość wskaźnika ich transferu do mleka w decydującym stopniu zależą od: gatunku i odmiany roślin, stadium wegetacji, zabiegów agrotechnicznych, warunków atmosferycznych w okresie wegetacji oraz sposobu konserwacji (suszenie, kiszenie).

Zielonki i kiszonki z porostu łąkowego, roślin motylkowatych oraz mieszanek roślin motylkowatych z trawami powinny być w maksymalnym stopniu wykorzystywane w żywieniu krów mlecznych jako cenne źródło witaminy A, E i  $\beta$ -karotenu, które obok nienasyconych kwasów tłuszczowych wpływają korzystnie na jakość produkowanego mleka i zdrowie konsumentów.

**Słowa kluczowe:** antyoksydanty, pasze objętościowe, mleko, tokoferole, karotenoidy, witaminy

### Wprowadzenie

W żywieniu krów mlecznych na szczególną uwagę zasługują antyoksydanty zawarte w tłuszczu pasz objętościowych, skarmianych w postaci zielonek lub po ich zakonserwowaniu w formie kiszonek i siana. Są to przede wszystkim karotenoidy i tokoferole, które są jednocześnie prowitaminami witamin A i E oraz  $\beta$ -karotenu. Jako anty-

---

*Prof. dr hab. J. Krzyżewski, dr hab. N. Strzałkowska, dr hab. E. Bagnicka, dr hab. A. Józwik, prof. dr hab. J. O. Horbańczuk, Instytut Genetyki i Hodowli Zwierząt PAN w Jastrzębcu, ul. Postępu 1, 05-552 Wólka Kosowska*

oksydanty chronią zawarte w mleku nienasycone kwasy tłuszczowe przed niekorzystnymi procesami utleniania, zachowując jednocześnie ich wysoką aktywność biologiczną oraz odpowiedni smak i zapach. Dowiedziono, że istnieje możliwość produkcji mleka z dużą zawartością nienasyconych kwasów tłuszczowych, które charakteryzują się udokumentowanym korzystnym wpływem na stan zdrowia konsumentów [2, 3, 19, 38]. Zarówno jedno- jak i wielonienasycone kwasy tłuszczowe są szczególnie podatne na procesy utleniania, w wyniku których mleko i produkty z niego otrzymywane charakteryzują się zmniejszoną zawartością składników biologicznie czynnych, niewłaściwym zapachem i smakiem oraz skróconym okresem przydatności do spożycia [7, 17, 39, 40]. Aby temu zapobiec powinna być utrzymywana równowaga pomiędzy zawartością nienasyconych kwasów tłuszczowych a stężeniem rozpuszczalnych w tłuszczu mleka antyoksydantów [13, 24]. Ich źródłem mogą być naturalne składniki diety, przede wszystkim pasze objętościowe [16] lub suplementy dodawane do diet [27]. Przystawalność naturalnego  $\beta$ -karotenu, występującego w roślinach, jest znacznie lepsza w porównaniu z jego formą syntetyczną [28]. Różnice aktywności naturalnego i syntetycznego  $\beta$ -karotenu są uwarunkowane przestrzenną konfiguracją cząsteczek. Syntetyczny  $\beta$ -karoten składa się wyłącznie z formy „all-trans”, natomiast  $\beta$ -karoten naturalny jest mieszaniną formy „9-cis” i „all-trans”. Z tego względu syntetyczny  $\beta$ -karoten jest nie tylko słabiej wykorzystywany, ale może nawet wywierać szkodliwy wpływ na zdrowie zwierząt.

### **Aktywność biologiczna i zawartość karotenoidów w paszach objętościowych**

Związki chemiczne należące do tej grupy charakteryzują się bardzo silnymi właściwościami antyoksydacyjnymi [16]. Spośród około 600 rodzajów karotenoidów tylko niektóre aktywnie oddziałują na organizm zwierząt i człowieka [30]. Są to  $\alpha$ -,  $\beta$ - i  $\gamma$ -karoten oraz kryptoksantina. Największą efektywnością konwersji na witaminę A (retinol i retinal) charakteryzuje się  $\beta$ -karoten. Istnieje ścisła zależność między ilością  $\beta$ -karotenu pobranego z diety a wielkością rezerw w organizmie krowy i jego stężeniem w mleku [37]. Na zawartość  $\beta$ -karotenu ma wpływ wiele czynników, przede wszystkim gatunek rośliny, faza wegetacji oraz zabiegi agrotechniczne. Zawartość  $\beta$ -karotenu w paszy, którą zwierzę otrzymuje, zależy od jego stężenia w roślinie oraz współczynnika degradacji w trakcie zbioru i konserwacji [31]. Najwięcej  $\beta$ -karotenu gromadzi się w plastydach znajdujących się w liściach, w których zawartość karotenoidów jest 5 - 10 razy większa niż w łodygach. W roślinach najczęściej używanych na paszę, tj. w kupkówce pospolitej (*Dactylis glomerata*), rajgrasie trwałym (*Lolium perenne*) i koniczynie czerwonej (*Trifolium pratense*) przeciętna zawartość luteiny, zeaksantyny, epiluteiny i  $\beta$ -karotenu wynosi odpowiednio [g/kg s.m.]: 630, 120, 80 i 170. Jak podają Chauveau-Duriot i wsp. [6], stokłosa bezostna (*Bromus inermis* Leyss), mozga trzcinowata (*PHALARIS ARUNDINACEA* L.) oraz koniczyna czerwona (*Trifo-*

*lium pratense L.*) zawierają od 25 do 50 % więcej karotenoidów niż życica trwała (*Lolium perenne*). Jeszcze bardziej jest zróżnicowana zawartość karotenoidów w zielonce z kupkówki pospolitej (*Dactylis glomerata L.*), życicy trwałej (*Lolium perenne*), konicyzny czerwonej (*Trifolium pratense L.*), lucerny siewnej (*Medicago sativa*) i porostu łąkowego, waha się bowiem od 40 mg/kg (cis- $\beta$ -karoten) do 630 mg/kg (luteina). W miarę upływu wegetacji zmniejsza się zawartość karotenoidów w roślinach. Wyniki badań Prache i wsp. [33] wykazały, że w poroście pastwiskowym stężenie karotenoidów ulegało stosunkowo niewielkim zmianom od maja do czerwca (620 - 700 mg/kg suchej masy), zaś na początku sierpnia zmniejszyło się do poziomu 430 mg/kg suchej masy. Zawartość karotenoidów w roślinach w dużym stopniu zależy od stosunku masy liści do masy łodyg. Wyniki badań Reynoso i wsp. [34] wykazały, że zawartość luteiny i  $\beta$ -karotenu w roślinach zielonych należących do tego samego gatunku była 2 - 3-krotnie większa w warunkach wilgotnego, w porównaniu z suchym, klimatu tropikalnego. Noziere i wsp. [31] podają, że całkowita zawartość karotenoidów w kukurydzy wynosi 70 - 80 mg/kg s.m., czyli 5 - 10 razy mniej niż w innych roślinach używanych na paszę dla krów. Wynikają stąd trudności związane z pokryciem zapotrzebowania krów na karotenoidy przy żywieniu dietami z udziałem kukurydzy jako jedynej paszy objętościowej.

W procesach konserwacji pasz zielonych zachodzą znaczne straty karotenoidów. Przy produkcji siana aż 83 % karotenoidów ulega rozkładowi pod wpływem promieniowania UV w porównaniu z kiszonką sporządzoną z tych samych roślin bezpośrednio po skoszeniu [6]. Znaczne straty karotenoidów mają miejsce również w procesie produkcji kiszonek z materiału podsuszonego. W trakcie podsuszania w części niezniszczonej  $\beta$ -karotenu pod wpływem promieni słonecznych (UV) następuje zamiana aktywnej formy „trans” na mniej aktywny izomer „cis”. Oprócz formy geometrycznej  $\beta$ -karotenu decydującymi czynnikami o jego biologicznej aktywności są: rodzaj rośliny, wewnątrzkomórkowa lokalizacja karotenoidów, obecność lipidów oraz technologia sporządzania kiszonki [35]. W procesie podsuszania do zawartości 40 % suchej masy w zielonce straty  $\beta$ -karotenu mogą dochodzić nawet do 50 %. Niezależnie od strat zachodzących w procesie podsuszania roślin przed zakiszaniem, zachodzą również straty w procesie fermentacji, uzależnione od pH i dostępu tlenu [30]; straty te są większe przy kiszeniu roślin motylkowatych w porównaniu z trawami i wzrastają w miarę upływu czasu przetrzymywania kiszonki w silosie. W skrajnych przypadkach straty  $\beta$ -karotenu podczas produkcji kiszonek mogą dochodzić do 80 %, lecz w kiszonkach sporządzonych w sposób prawidłowy nie przekraczają z reguły 20 %. Zmiany zawartości  $\beta$ -karotenu w obrębie jednej rośliny w największym stopniu zależą od stadium wegetacji, warunków atmosferycznych i metody konserwacji, a jego dostępność dla organizmu zwierząt zależy od stopnia strawności, sposobu konserwacji oraz zawartości lipidów, węglowodanów strukturalnych, interakcji między poszczególnymi karotenoi-

dami i cech osobniczych zwierząt [30]. Przy sprzyjającej pogodzie w okresie wegetacji roślin wraz ze wzrostem plonu zielonej masy zwiększa się również zawartość karotenoidów [34]. Karotenoidy znajdujące się w komórkach roślinnych są dość stabilne, jednak przy konserwowaniu zielonek na paszę występują straty spowodowane m.in. „enzymatycznym brązowieniem” karotenoidów, zapoczątkowanym przez enzymatyczną oksydację składników fenolowych, katalizowaną przez oksydazę polifenolową [8]. Przeciętna zawartość  $\beta$ -karotenu w zielonce, suszu mechanicznym, kiszonce i sianie wynosi odpowiednio: 196, 159, 81 i 36 mg/kg s.m. [42]. Zawartość karotenoidów w paszy jest dodatnio skorelowana z zawartością ekstraktu eterowego; współczynnik korelacji między zawartością karotenoidów i ekstraktu w kiszonce z traw wynosi  $r = 0,60$ , zaś w przypadku kiszonki z koniczyny czerwonej  $r = 0,82$  [6]. Istnieje również wysoka dodatnia korelacja między zawartością karotenoidów a zawartością białka ( $r = 0,71$ ) i ujemna z zawartością włókna surowego ( $r = -0,73$ ).

#### **Aktywność biologiczna i zawartość tokoferoli w paszach objętościowych**

W skład tej grupy związków charakteryzujących się wysoką aktywnością biologiczną wchodzi:  $\alpha$ -,  $\beta$ -,  $\gamma$ - i  $\delta$ -tokoferol oraz tokotrienole [14];  $\alpha$ -tokoferol jest utożsamiany z witaminą E. Inne formy tokoferoli charakteryzują się znacznie mniejszą aktywnością w porównaniu z izomerem  $\alpha$  [36]. Warto podkreślić, że naturalny izomer  $\alpha$ -tokoferolu charakteryzuje się wyższą aktywnością ( $1,49 \text{ IU mg}^{-1}$  witaminy E) w porównaniu z syntetyczną witaminą E ( $1,0 \text{ IU mg}^{-1}$ ), w składzie której znajduje się 8 różnych izomerów  $\alpha$ -tokoferolu [36]. Wprawdzie syntetyczny  $\alpha$ -tokoferol jest absorbowany z taką samą efektywnością jak naturalny izomer RRR  $\alpha$ -tokoferolu, ale ilość pobierana przez tkanki (np. mózg) jest znacznie mniejsza [36]. Zależność tę potwierdzają wyniki badań [27]. W wyniku suplementacji diet dla krów izomerem RRR  $\alpha$ -tokoferolu uzyskano wyższe stężenie witaminy E we krwi i w mleku tych zwierząt w porównaniu z podawaniem syntetycznej formy  $\alpha$ -tokoferolu. Wyniki badań przeprowadzonych w USA z udziałem pacjentów wykazały, że przyjmowanie tabletek z syntetyczną witaminą E może mieć związek z podwyższonym ryzykiem zawału serca i innych schorzeń układu krążenia. Wniosek ten został potwierdzony w wyniku przeprowadzonej metaanalizy, obejmującej 19 niezależnie przeprowadzonych badań w latach 1993-2004 na łącznej grupie 136 tysięcy pacjentów, dotyczących bezpieczeństwa związanego z regularnym przyjmowaniem syntetycznej witaminy E [29]. Okazało się, że codzienne pobieranie witaminy E w ilości 400 IU przyczynia się do zwiększenia śmiertelności pacjentów o około 10 %. Toksyczność syntetycznej formy witaminy E może wiązać się z wypieraniem przez nią naturalnych antyoksydantów dostarczanych przez organizm wraz z pożywieniem lub z jej właściwościami antykoagulacyjnymi [20].

Ballet i wsp. [1] wskazują na znaczne zróżnicowanie stężenia zarówno  $\alpha$ -tokoferolu, jak i  $\beta$ -karotenu w paszach, podkreślając jednocześnie, że poziom ten jest znacznie niższy w sianie sporządzonym z tej samej rośliny niż w kiszonce. Największą zawartość  $\alpha$ -tokoferolu (34 mg/kg s.m.) stwierdzono w kiszonkach. Lynch i wsp. [24] podają, że w zielonce pastwiskowej przeciętna zawartość  $\alpha$ -tokoferolu wynosi 14 – 15 mg/kg s.m., zaś w sianie łąkowym 7,6 - 8 mg/kg s.m. Jeszcze mniejszą zawartość  $\alpha$ -tokoferolu stwierdzono w zielonce z koniczyny białej (0,44 - 2,3 mg/kg s.m.) i czerwonej (0,6 - 1,8 mg/kg s.m.). Tak duże różnice zawartości  $\alpha$ -tokoferolu w roślinach znajdują odzwierciedlenie w jego koncentracji w kiszonkach. Potwierdzają to wyniki badań Lyncha [24]. Zawartość  $\alpha$ -tokoferolu w kiszonce z traw z pierwszego pokosu wahała się w granicach od 0,8 do 49,9 mg/kg s.m., natomiast kiszonki sporządzone z traw zebranych z drugiego i trzeciego pokosu zawierały znacznie mniej  $\alpha$ -tokoferolu, odpowiednio: 0,8 - 20,6 i 0,33 - 5,19 mg/kg s.m. Również wyniki badań Lee i wsp. [22] wskazują na większą zawartość witaminy E w kiszonkach z traw w porównaniu z kiszoną z koniczyny czerwonej (12,6 mg/kg s.m. vs. 6,13 mg/kg s.m.). W badaniach Havemose i wsp. [12] ponad dwukrotnie większa zawartość witaminy E w kiszonce z traw w porównaniu z kiszoną z kukurydzy znalazła odzwierciedlenie w zawartości tej witaminy w mleku krów (854 mg/l vs. 375 mg/l).

Wyniki badań van Ransta i wsp. [41] wskazują, że w procesie kiszenia częściowa lipoliza tłuszczu zawartego w kiszonkach, a następnie uwodorowanie powstających wolnych kwasów tłuszczowych w żwaczu, może przyczynić się do zmniejszenia zawartości wielonienasyconych kwasów w mleku krów. Należy dodać, że proces lipolizy w kiszonkach z koniczyn lub z mieszanek koniczyn z trawami jest stosunkowo niewielki, co jest spowodowane wysoką aktywnością oksydazy polifenolowej zawartej w koniczynie i jej hamującym wpływem na proces lipolizy. Tezę tę potwierdzają wyniki badań van Ransta i wsp. [41] nad żywieniem krów kiszoną z koniczyny czerwonej, w której zawarte kwasy z rodziny omega-3 ulegają w niewielkim stopniu procesowi biouwodowania w żwaczu. Zatem kiszonki z porostu łąkowego, roślin motylkowatych lub mieszanek motylkowato-trawiastych mogą być cennym źródłem zarówno witaminy E, jak i  $\beta$ -karotenu. Jednakże w kiszonkach, które są źle przygotowane, zarówno  $\alpha$ -tokoferol, jak i  $\beta$ -karoten ulegają w znacznym stopniu rozkładowi [18]. W przypadku zastosowania w żywieniu krów kiszonek bardzo dobrej jakości można produkować dużą ilość mleka z pożądaną zawartością składników funkcjonalnych, korzystnie wpływających na stan zdrowia konsumentów.

### **Wpływ żywienia krów na zawartość tokoferolu, retinolu i $\beta$ -karotenu w mleku**

Dobre mleko powinno utrzymywać przyjemny smak i zapach od udoju aż do 14 dni przechowywania go w temperaturze 4 °C. Jeżeli mleko zawiera znaczną ilość kwasów tłuszczowych wielonienasyconych, wówczas w wyniku zachodzących procesów

utleniania pojawia się posmak metaliczny lub zjełczały. W niektórych przypadkach taki posmak występuje w mleku tuż po udoju. W mleku, w którym znajduje się odpowiednie stężenie naturalnych antyoksydantów niekorzystne procesy nie zachodzą. Pobranie przez krowę w paszy przynajmniej 3000 IU witaminy E/dobę skutecznie zapobiega występowaniu niekorzystnego zapachu mleka [16]. Do chwili obecnej nie można jeszcze definitywnie ustalić wielkości wskaźnika transferu lipofilnych witamin z paszy do mleka. Jensen i wsp. [16] wykazali, że tylko niewielka ilość tokoferoli i retinolu w formie estrowej jest transferowana z paszy do mleka. Zatem, aby krowa mogła pobrać niezbędną ilość witamin, gwarantującą utrzymanie statusu oksydacyjnego na pożądanym poziomie i jednocześnie korzystne oddziaływanie na organizm konsumentów, ich zawartość w paszy powinna być bardzo duża. Potwierdzają to wyniki doświadczenia, w którym wykazano, że w mleku krów żywionych według systemu PMR zawartość witaminy E w mleku w listopadzie była stosunkowo mała i wynosiła 10,34  $\mu\text{g/g}$  tłuszczu, podczas gdy w czerwcu, przy korzystaniu z pastwiska, była ponad trzykrotnie większa i wynosiła 36,17  $\mu\text{g/g}$  tłuszczu [16]. W badaniach Strusińskiej i wsp. [37] zawartość witaminy E,  $\beta$ -karotenu i witaminy A w mleku krów wypasanych na pastwisku była odpowiednio: czterokrotnie, dwukrotnie i o  $\frac{1}{4}$  większa w porównaniu z mlekiem analogicznych zwierząt żywionym według systemu TMR z udziałem kiszonki z kukurydzy. Noziere i wsp. [31] wykazali, że obok rodzaju skarmianych pasz, istotnym czynnikiem wpływającym na zawartość witaminy A, E i  $\beta$ -karotenu w mleku jest poziom żywienia energetycznego krów, jak również zawartość wielonienasyconych kwasów tłuszczowych w dawce pokarmowej [26]. W skład karotenoidów w mleku wchodzi przede wszystkim  $\beta$ -karoten oraz niewielka ilość luteiny, zeaksantyny i  $\beta$ -hydroksyksantyny [12, 15]. Stwierdzono także obecność śladowych ilości 13-cis- $\beta$ -karotenu, którego źródła pochodzenia dotychczas nie ustalono. Zawartość sumaryczna karotenoidów w mleku najczęściej mieści się w przedziale 750 - 850 mg/kg. Retinol występuje przeważnie w formie estrowej. Izomer „cis” retinolu występuje w bardzo małej ilości w mleku krów [32], natomiast jego udział w mleku kozim w całkowitej ilości retinolu stanowi 1,5 - 3,5 % [10]. Zawartość karotenoidów i retinolu w mleku podawana w piśmiennictwie waha się w bardzo szerokich granicach i wynosi odpowiednio: 1 - 17  $\mu\text{g/g}$  tłuszczu i 1 - 12  $\mu\text{g/g}$  tłuszczu [30]. Mniejsze wahania występują w zakresie koncentracji retinolu w plazmie krwi (1 - 6  $\mu\text{g/ml}$ ). Stężenie retinolu w mleku w porównaniu z  $\beta$ -karotenem ulega w mniejszym zakresie wahanom w zależności od rodzaju paszy [25, 30]. Według Noziere i wsp. [30] część podanych rozbieżności wynika ze stosowania różnych metod analitycznych. Spośród czynników wpływających na zawartość karotenoidów, witaminy A i E w mleku krów ma żywienie. Wyniki nad porównaniem 7 diet różniących się poziomem karotenoidów wskazują, że zarówno koncentracja w mleku  $\beta$ -karotenu, jak i jego ilość w dobowej partii mleka wykazują ścisły związek z poziomem  $\beta$ -karotenu we krwi, a ta z kolei

zależy od ilości  $\beta$ -karotenu strawionego w przewodzie pokarmowym [25]. Podobne rezultaty uzyskano przy porównywaniu diet z udziałem porostu pastwiskowego, siana, kiszonki z traw i kiszonki z kukurydzy [12, 30].

### **Procesy utleniania kwasów tłuszczowych w mleku i produktach mlecznych**

Zwiększaniu zawartości nienasyconych kwasów tłuszczowych zarówno w roślinach, jak i w mleku krów żywionych tymi roślinami, towarzyszy z reguły przyrost zawartości witamin lipofilnych i  $\beta$ -karotenu [23]. La Terra i wsp. [21] również wykazali, że w miarę wzrostu udziału porostu pastwiskowego w dietach krów (z 30 do 70 %) zarówno w mleku, jak i w surowicy krów zwiększała się zawartość kwasu wakcenenowego, eikozapentaenowego, dokozaheksaenowego, sprzężonego kwasu linolowego oraz witamin rozpuszczalnych w tłuszczu, tj.  $\alpha$ -tokoferolu, witaminy A i  $\beta$ -karotenu. Butler i wsp. [5] stwierdzili, że mleko krów produkowane w gospodarstwach niskonakładowych, w których zielonki i kiszonki stanowiły podstawowy komponent diety, charakteryzowało się większą o 50 % zawartością  $\alpha$ -tokoferolu i o 80 %  $\beta$ -karotenu w stosunku do mleka pochodzącego z gospodarstw tradycyjnych. Podobne wyniki uzyskali Bergamo i wsp. [4], którzy stwierdzili ponadto, że w mleku krów z gospodarstw organicznych był ponad dwukrotnie wyższy stosunek CLA : LA w porównaniu z mlekiem z gospodarstw tradycyjnych (0,46 vs. 0,20). Należy podkreślić, że posługiwanie się przy porównywaniu jakości i składu chemicznego mleka terminami „gospodarstwa organiczne”, „konwencjonalne” lub „tradycyjne” jest mało precyzyjne, a w niektórych przypadkach nawet mylące. Najnowsze wyniki badań przeprowadzonych w Szwecji przez Falla i Emanuelsona [9] nad porównywaniem składu chemicznego mleka, produkowanego w okresie żywienia zimowego w 18 gospodarstwach organicznych i 19 konwencjonalnych wykazały wprawdzie istotne różnice pod względem zawartości kwasów tłuszczowych z rodziny n-3 i n-6 na korzyść mleka pochodzącego z gospodarstw organicznych, jednakże zdaniem autorów różnice te były stosunkowo niewielkie i tym samym w znikomym stopniu mogłyby wpływać na stan zdrowia konsumentów. Pod względem zawartości witamin A, E i  $\beta$ -karotenu oraz Se różnice były nieistotne. Zdaniem autorów zasadniczym powodem braku bardzo wyraźnych różnic były podobne systemy żywienia krów w okresie zimowym, w których podstawową paszą objętościową była kiszonka z mieszanki koniczyny czerwonej z trawami. Autorzy ci podkreślili, że zwiększenie koncentracji  $\beta$ -karotenu wpływa korzystnie na wartość odżywczą mleka oraz stabilność biologicznie czynnych kwasów tłuszczowych zawartych w mleku i w produktach mlecznych. Tak więc ryzyko związane ze zwiększoną oksydacją kwasów tłuszczowych w przypadku zwiększenia ich koncentracji w mleku jest zmniejszane przez obecność naturalnych antyoksydantów, przede wszystkim  $\beta$ -karotenu i witaminy E [5]. Pobranie przez krowę 9954 IU/dobę witaminy E może skutecznie zahamować procesy oksydacyjne w mleku [11]; taka ilość witami-

ny E powodowała jednocześnie wzrost zawartości  $\alpha$ -tokoferolu w mleku w porównaniu z mlekiem krów żywionych według systemu TMR o ok. 45 %, mimo że współczynnik transferu tej witaminy z paszy do mleka jest bardzo mały, wynosi bowiem 0,27 %.

Tokoferol jest bardziej efektywnym antyoksydantem chroniącym przed szkodliwym działaniem wolnych rodników w organizmie krów na poziomie komórkowym, podczas gdy  $\beta$ -karoten jest bardziej skuteczny w ochronie nienasyconych kwasów tłuszczowych w mleku. Dostarczenie karotenu w paszy ma tę zaletę, że jest on jednocześnie źródłem witaminy A, podawanie bowiem witaminy A w gotowej postaci stwarza niebezpieczeństwo szkodliwego działania w przypadku jej nadmiaru, podczas gdy organizm przekształca tylko tyle  $\beta$ -karotenu na witaminę A, ile wynosi aktualne zapotrzebowanie zwierzęcia.

### Podsumowanie

Z dokonanego przeglądu piśmiennictwa wynika, że na zawartość karotenoidów i tokoferoli w tłuszczu pasz objętościowych oraz na ich transfer do mleka decydujący wpływ ma rodzaj paszy objętościowej (gatunek rośliny, a nawet odmiana), stadium wegetacji, zabiegi agrotechniczne, przebieg pogody w okresie wegetacji oraz sposób konserwacji (suszenie, kiszenie). W związku z tym należy w możliwie maksymalnym stopniu wykorzystać naturalne antyoksydanty zawarte głównie w paszach zielonych. Szczególną uwagę należy więc zwracać na jakość tzw. pasz objętościowych, tj. wszelkiego rodzaju zielonek skarmianych zarówno w formie świeżej, jak i po odpowiednim ich zakonserwowaniu. Zwiększeniu zawartości nienasyconych kwasów tłuszczowych zarówno w roślinach, jak i w mleku krów żywionych tymi roślinami, towarzyszy z reguły również zwiększenie zawartości witamin lipofilnych (A i E) oraz  $\beta$ -karotenu. Wynika stąd najważniejszy wniosek, że kiszonki z porostu łąkowego, roślin motylkowatych lub mieszanek motylkowato-trawiastych powinny być w maksymalnym stopniu wykorzystywane w żywieniu krów mlecznych jako cenne źródło zarówno witaminy A, E, jak i  $\beta$ -karotenu, a więc składników funkcjonalnych, korzystnie wpływających na jakość produkowanego mleka i stan zdrowia konsumentów.

*Badania zrealizowano w ramach projektu "BIOŻYWNOŚĆ – innowacyjne, funkcjonalne produkty pochodzenia zwierzęcego" nr POIG.01.01.02-014-090/09 współfinansowanego przez Unię Europejską ze środków Europejskiego Funduszu Rozwoju Regionalnego w ramach Programu Operacyjnego Innowacyjna Gospodarka 2007 – 2013.*



### Literatura

- [1] Ballet N., Robert J.C., Williams P.F.: Vitamins in forages. Ch. 19. In: Forage evaluation in ruminant nutrition. (Eds). Givens D.I., Owen E., Axford R.F.E., Omed H.M. CABI Publishing, Oxon, 2000, UK.
- [2] Barłowska J., Litwińczuk Z.: Właściwości odżywcze i prozdrowotne tłuszczu mleka. *Med. Wet.*, 2009, **65**, 171-174.
- [3] Barłowska J., Litwińczuk Z.: Genetyczne i środowiskowe uwarunkowania profilu kwasów tłuszczowych mleka. *Med. Wet.*, 2009, **65**, 310-314.
- [4] Bergamo P: Fat soluble vitamin contents and fatty acid composition in organic and conventional Italian dairy products. *Food Chem.*, 2003, **82 (4)**, 625-631.
- [5] Butler G., Nielsen J.H., Tina S., Chris S., Mick D.E., Roy S., Leifert C.: Fatty acid and fat – soluble antioxidant concentrations in milk from high- and low- input conventional and organic systems: seasonal variation. *J. Sci. Food Agric.*, 2008, **88 (8)** 1431- 1441.
- [6] Chauveau-Duriot B., Thomas D., Portelli J., Doreau M. 2005 – Carotenoids content in forages: variation during conservation. *Renc. Rech. Ruminants*, 2005, **12**, 117.
- [7] Chen S., Bobe G., Zimmerman S., Hammond E.G., Luhman C.M., Boylston T.D.: Physical and sensory properties of dairy products from cows with various milk fatty acid compositions. *J. Agric. Food Chem.*, 2004, **52**, 3422-3452.
- [8] De Rigal D., Gaillard F., Richard-Forget F.: Changes in the carotenoid content of apricot (*Prunus armenica*, var. *Bergeron*) during enzymatic browning:  $\beta$ -carotene inhibition of chlorogenic acid degradation. *J. Sci. Food Agric.*, 2000, **80 (14)**, 763-768.
- [9] Fall N., Emanuelson U.: Fatty acid content, vitamins and selenium in bulk tank milk from organic and conventional Swedish dairy herds during the indoor season. *J. Dairy Res.*, 2011, **78 (2)**, 1-6.
- [10] Fedele V., Rubino R., Claps S., Manzi P., Marconi S., Pizzoferrato L. : Seasonal retinol variation in goat milk associated with grazing compared to indoor feeding. *S. Afr. J. Anim. Sci.*, 2004, **34**, 165-167.
- [11] Focant M., Mignolet E., Marique M.F.: The effect of vitamin E supplementation of cows diets containing rapeseed and linseed on the prevention of milk fat oxidation. *J. Dairy Sci.*, 1998, **81(4)**, 1095-1101.
- [12] Havemose M.S., Weisberg M.R., Bredie L.P., Nielsen J.H. : Influence of feeding different types of roughage on the oxidative stability of milk. *Int. Dairy J.*, 2004, **14 (7)**, 563-570.
- [13] Havemose M.S., Weisbjerg M.R., Bredie W.L.P., Poulsen H.D., Nielsen J.H.: Oxidative stability of milk influenced by fatty acids, antioxidants, and copper derived from feed. *J. Dairy Sci.*, 2006, **89(6)**, 1970-1980.
- [14] Horvarth G., Wessjohann L., Bigirimana J., Jansen M., Guisez Y., Caubergs R., Horemans N.: Differential distribution of tocopherols and tocotrienols in photosynthetic and non-photosynthetic tissues. *Phytochemistry*, 2006, **67**, 1185-1195.
- [15] Hulshof P.J.M., van Roeckel-Jansen T., van de Bovenkamp P., West C.E.: Variation in retinol and carotenoid content of milk and milk products in The Netherlands. *J. Food Comp. Anal.*, 2006, **19**, 67-75.
- [16] Jensen S.K., Johannsen A.K.B., Hermansen J.E. : Quantitative secretion and maximal secretion capacity of retinol,  $\beta$ -carotene and  $\alpha$ -tocopherol into cows' milk. *J. Dairy Sci.* 1999, **66**, 511-522.
- [17] Józwick A., Strzałkowska N., Bagnicka E., Łagodziński Z., Pyzel B., Chyliński W., Czajkowska A., Grzybek W., Słoniewska D., Krzyżewski J., Horbańczuk J.O. : The effect of feeding linseed cake on milk field and milk fatty acid profile in goats. *Anim. Sci. Pap. Rep.* 2010, **28**, 245-251.
- [18] Kalač P.: The effects of silage feeding on some sensory and health attributes of cow's milk. A review. *Food Chem.*, 2011, **125**, 307-317.

- [19] Krzyżewski J., Strzałkowska N., Józwik A., Bagnicka E., Horbańczuk J.O.: Wpływ rodzaju skarmianych pasz objętościowych na profil kwasów tłuszczowych w mleku krów. *Życie Wet.*, 2011, **86**, 522-525.
- [20] Koton-Czarnecka M.: Krytyka syntetycznych antyoksydantów. *Puls Med.*, 2006, **14**, 137.
- [21] La Terra S., Marino V.M., Menti M., Licitra G., Caprino S.: Increasing pasture intakes enhances polyunsaturated fatty acids and lipophilic antioxidants in plasma and milk of dairy cows fed total mixed ration. *Dairy Sci. Technol.*, 2010, **90**, 687-698.
- [22] Lee M.R.F., Tweed J.K.S., Minchin F.R., Winters A.L.: Red clover polyphenol oxidase: Activation activity and efficacy under grazing. *Anim. Feed Sci. Technol.*, 2009, **149**, 250-264.
- [23] Lucas A., Agabriel C., Martin B., Ferlay A., Verdier-Metz I., Coulon J.B., Rock E.: Relationship between the conditions of cow's milk production and the contents of component of nutritional interest in raw milk farmhouse cheese. *Lait*, 2006, **86**, 177-202.
- [24] Lynch A., Kerry J.P., Buckley D.J., Morrissey P.A., Lopez-Bote C.: Use of high pressure liquid chromatography (HPLC) for the determination of CDA-tokopherol levels in forage (silage/grass) samples collected from different regions in Ireland. *Food Chem.*, 2001, **72**, 521-524.
- [25] Martin B., Fedele V., Ferlay A., Grolier P., Rock E., Gruffat D., Chilliard Y.: Effects of grass-based diets on the content of micronutrients and fatty acids in bovine and caprine dairy products. In: Lüscher A., Jeangros B., Kessler W., Huguenin O., Lobsiger M., Millar N., Suter D. (Eds.). *Land Use Systems in Grassland Dominated Regions*, vol. 9, Vdf, Zürich, 2004, **9**, 876-886.
- [26] Mc Dowell L. R.: *Vitamins in animal and human nutrition*. Second Edn. Ames IW, USA, Iowa State University Press, 2000.
- [27] Meglia G.E., Jensen S.K., Lauridsen C., Waller K.P.:  $\alpha$ -tocopherol concentration and stereoisomer composition in plasma and milk from dairy cows fed natural and synthetic vitamin E around calving. *J. Dairy Res.*, 2006, **7**, 227-234.
- [28] Melton L.: The antioxidant myth: a medical fairy tale. *New Scientist*, 2006 (**2563**), 40-43.
- [29] Miller E.R., Pastor-Bariuso R., Dalal D., Riemersma R.A., Appel L.J., Guallar E.: Meta-analysis: high-dosage vitamin E supplementation may increase all-cause mortality. *Ann. Intern. Med.*, 2005, **142**, 37-46.
- [30] Noziere P., Graulet B., Lucas A., Martin B., Grolier P., Doreau M.: Carotenoids for ruminants: from forages to dairy products. *Anim. Feed Sci. Technol.*, 2006a, **131**, 418-450.
- [31] Noziere P., Grolier P., Durand D., Ferlay A., Pradel P., Martin B.: Variations in carotenoids, fat-soluble micronutrients and color in cows' plasma and milk following changes in forage and feeding level. *J. Dairy Sci.*, 2006b, **89**, 2634-2648.
- [32] Panfili G., Manzi P., Pizzoferrato L.: Influence of thermal and Rother manufacturing stresses on retinol isomerization in milk and dairy products. *J. Dairy Res.*, 1998, **65**, 253-260.
- [33] Prache S., Priolo A., Grolier P.: Persistence of carotenoid pigments in the blood of concentrate-finished grazing sheep: its significance for traceability of grass-feeding. *J. Anim. Sci.*, 2003, **81**, 360-367.
- [34] Reynoso C.R., Mora O., Nieves V., Shimada A., De Mejia E.G.: Beta-carotene and lutein in forage and bovine adipose tissue in two tropical regions of Mexico. *Anim. Feed Sci. Technol.*, 2004, **113**, 183-190.
- [35] Schieber A., Carle R.: Occurrence of cis-isomers in food. Technological, analytical, and nutritional implications. *Trends Food Sci. Technol.*, 2005, **16**, 416-422.
- [36] Schneider C.: Review: Chemistry and biology of vitamin E. *Mol. Nutr. Food Res.*, 2005, **49**, 7-30.
- [37] Strusińska D., Antoszkiewicz Z., Kaliniewicz J.: The concentrations of  $\beta$ -carotene, vitamin A and vitamin E in bovine milk in regard to the feeding season and the share of concentrate in the feed ration. *Rocz. Nauk. Pol. Tow. Zoot.*, 2010, **6**, 213-220.

- [38] Strzałkowska N., Jóźwik A., Bagnicka E., Krzyżewski J., Horbańczuk K., Pyzel B., Horbańczuk J.O.: Chemical composition, physical traits and fatty acid profile of goat milk as related to the stage of lactation. *Anim. Sci. Pap. Rep.* 2009, **27**, 263-272.
- [39] Strzałkowska N., Jóźwik A., Bagnicka E., Krzyżewski J., Horbańczuk K., Pyzel B., Siwiec D., Horbańczuk J.O.: The concentration of free fatty acids in goat milk as related to the stage of lactation, age and somatic Cell count. *Anim. Sci. Pap. Rep.* 2010, **28**, 389-395.
- [40] Strzałkowska N., Jóźwik A., Bagnicka E., Krzyżewski J., Horbańczuk J.O.: Studies upon genetic and environmental factors affecting the cholesterol content in cow milk. II. The effect of silage type offered. *Anim. Sci. Pap. Rep.*, 2009, 199-206.
- [41] Van Ranst G., Fievez V., Vandewalle M., De Riek J., Van Bockstaele E.: Influence of herbage species, cultivar and cutting date on fatty acid composition of herbage and lipid metabolism during ensiling. *Grass Forage Sci.*, 2009, **64**, 196-207.
- [42] Williams P.E.V., Ballet N., Robert J.C.: A review of the provision of vitamins for ruminants. In: *Proc. of the Preconference Symp. of the Cornell Nutrition Conference 1998. Provision of Vitamins and Amino Acids for Ruminants*, Rhone Poulenc Animal Nutrition, Anthony, France, 1998, pp. 7- 37.

#### EFFECTS OF ANTIOXIDANTS IN FAT CONTAINED IN BULKY FORAGES ON COWS' MILK QUALITY

##### S u m m a r y

Antioxidants contained in bulky forages, i.e. Tocopherols and carotenoids, play a significant role in meeting the demand for carotene, and vitamins a and e in dairy cows. This paper is a review of the results of some scientific research carried out during the last decade in order to study the impact of natural antioxidants in fat contained in bulky forages on the oxidative status of milk as well as on the content of functional components in milk. Based on the research results analyzed, it is possible to manufacture milk with an increased content of unsaturated fatty acids and antioxidative substances (vitamins a, e, and  $\beta$ -carotene), provided, however, that the cows are fed forages with a high content of carotenoids and tocopherols. The antioxidants as named above protect the unsaturated fatty acids contained in the milk fat from adverse oxidation processes, and, at the same, they retain their high biological activity and a proper taste and odour of milk. The content of carotenoids and tocopherols in bulk forages, as well as the rate of their transfer into milk depend crucially on the following: species and variety of plants, stage of vegetation, agrotechnical measures applied, weather conditions during the vegetation period, and forage conservation methods (such as drying or silage).

Green fodders and silages from vegetative meadow covers, papilionaceous plants, and mixtures of grasses and papilionaceous plants should be maximally utilized in feeding dairy cows as a valuable source of vitamins a, e, and  $\beta$ -carotene, since they, together with the unsaturated fatty acids, beneficially impact the quality of milk and consumers' health.

**Key words:** antioxidants, bulk forages, milk, tocopherols, carotenoids, vitamins ☒