

BEATA PASZCZYK, WALDEMAR BRANDT

WPLYW CZASU PRZECHOWYWANIA NA ZAWARTOŚĆ CLA ORAZ IZOMERÓW TRANS C18:1 I C18:2 W JOGURTACH Z MLEKA KROWIEGO O ZNORMALIZOWANEJ ZAWARTOŚCI TŁUSZCZU

Streszczenie

Przedmiotem badań była ocena zawartości sprzężonego kwasu linolowego *cis9trans11* C18:2 (CLA) oraz izomerów *trans* kwasu C18:1 i kwasu C18:2 w mleku znormalizowanym oraz w jogurtach z niego wyprodukowanych: świeżych i przechowywanych w temp. 8 ± 1 °C do 21 dni. Jogurty wyprodukowano metodą termostatową w skali półtechnicznej. Do ich produkcji zastosowano mrożone kultury jogurtowe YoFlex®Premium 2.0.

W badaniach wykazano, że czas przechowywania jogurtów wpłynął istotnie ($p < 0,05$) na zmniejszenie zawartości sprzężonego kwasu linolowego (CLA) oraz izomerów *trans* kwasu C18:1 i C18:2 w jogurtach. Największą zawartością kwasu *cis9trans11* C18:2 oraz izomerów *trans* kwasu C18:1 i C18:2 charakteryzowały się jogurty świeże w 1. dniu przechowywania. Średnia zawartość CLA w tych jogurtach wynosiła 3,16 mg/g tłuszczu. Zawartość izomerów *trans* kwasu C18:1 wynosiła 15,28 mg/g tłuszczu, a izomerów *trans* kwasu C18:2 – 4,48 mg/g tłuszczu. Najmniejszą zawartość CLA oraz izomerów *trans* kwasu C18:1 i C18:2 stwierdzono w jogurtach w 21. dniu przechowywania. Średnie zawartości kwasów wynosiły: sprzężonego kwasu linolowego – 1,95 mg/g tłuszczu, izomerów *trans* kwasu C18:1 – 9,96 mg/g tłuszczu, a izomerów *trans* kwasu C18:2 – 2,79 mg/g tłuszczu. Zawartość CLA oraz sumy izomerów *trans* C18:1 i C18:2 w tłuszczu badanych jogurtów były ze sobą silnie skorelowane.

Słowa kluczowe: CLA, izomery *trans*, jogurt, przechowywanie

Wprowadzenie

Sprzężone dieny kwasu linolowego (ang. *conjugated linoleic acid*, CLA) obejmują grupę pozycyjnych i geometrycznych izomerów kwasu linolowego (C18:2, *n-6*). W cząsteczkach tych kwasów podwójne wiązania w konfiguracji *cis* lub *trans* oddzie-

Dr inż. B. Paszczyk, Katedra Towaroznawstwa i Badań Żywności, Pl. Cieszyński 1, 10-726 Olsztyn, mgr inż. W. Brandt, Katedra Mleczarstwa i Zarządzania Jakością, Wydz. Nauki o Żywności, Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie, ul. Oczapowskiego 7, 10-719 Olsztyn.
Kontakt: paszczyk@uwm.edu.pl

lone są tylko jednym wiązaniem pojedynczym [31]. Związkiem najbardziej aktywnym biologicznie w tej grupie jest kwas *cis9trans11* C18:2, który stanowi dominujący składnik sprzężonych dienów tłuszczu mlekowego o udziale 80 ÷ 90 % wszystkich izomerów CLA [5, 15, 27, 21]. Charakteryzuje się on właściwościami prozdrowotnymi: przeciwnowotworowymi, przeciwmiażdżycowymi, przeciwutleniającymi i immunomodulacyjnymi [1, 7, 8, 25, 27, 28, 29, 31].

Głównym, naturalnym źródłem CLA w diecie człowieka jest mleko i jego przetwory. W organizmach przeżuwaczy kwas CLA powstaje jako pierwszy związek pośredni w procesie biouwodorniania kwasu linolowego przez izomerazę wytwarzaną przez bakterie żwacza [17]. CLA produkowany jest również endogennie z kwasu waksenowego (*trans* 11 C18:1) przy udziale delta-9 desaturazy [13]. Oszacowano, że aż 64 % CLA w tłuszczu mlekowym pochodzi z endogennej syntezy.

Zawartość CLA w tłuszczu mlekowym kształtuje się w zakresie 2,3 ÷ 6,0 mg/g tłuszczu [15, 17]. Na zróżnicowanie to wpływa wiele czynników, m.in. sposób żywienia krów związany z porą roku i składem paszy, indywidualne właściwości flory bakteryjnej w żołądkach przeżuwaczy oraz cechy genetyczne zwierząt. Zawartość CLA w produktach mleczarskich może różnić się od zawartości tego kwasu w mleku stanowiącym surowiec do ich produkcji. Na zawartość CLA w produktach mleczarskich, serach czy fermentowanych napojach mleczarskich mogą wpływać warunki procesów technologicznych: temperatura, czas dojrzewania, sposób pakowania oraz stosowane dodatki [22, 23, 32], a także zdolność niektórych kultur bakterii propionowych i mlekowych do syntezy CLA przy doborze odpowiednich warunków procesu fermentacji [2, 3, 4, 16, 18, 24, 26, 36].

Celem pracy była ocena wpływu czasu przechowywania na zawartość sprzężonego kwasu linolowego *cis9trans11* C18:2 (CLA) oraz izomerów *trans* kwasu C18:1 i kwasu C18:2 w jogurtach z mleka krowiego o znormalizowanej zawartości tłuszczu.

Material i metody badań

Materiałem doświadczalnym były: mleko znormalizowane przygotowane do produkcji jogurtów oraz jogurty. Mleko zbiorcze pochodziło z rejonu Olsztyna, a dostarczono je cysterną do hali technologicznej. Jogurty zostały wyprodukowane w skali półtechnicznej w Centrum Edukacyjno-Badawczym Wydziału Nauki o Żywności UWM w Olsztynie metodą termostatową, w kwietniu 2014 roku. Do produkcji zastosowano mrożone kultury jogurtowe YoFlex®Premium 2.0 (firmy Chr. Hansen, Dania) zawierające bakterie *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* i *Streptococcus thermophilus*. Proces produkcyjny obejmował: wirowanie mleka w temp. 45 ± 1 °C w wirowce typu U/G 20 (Spomasz, Bełżyce, Polska), normalizację zawartości tłuszczu do $2 \pm 0,1$ % oraz normalizację suchej masy do 14 % przez dodatek odtłuszczonego mleka w proszku (Spółdzielnia Mleczarska, Gostyń, Polska). Po znormalizowaniu mleko

poddawano dwustopniowej homogenizacji przy ciśnieniu 18 i 5 MPa, w temp. 65 °C, przy użyciu homogenizatora CN003 (Spomasz, Bełżyce, Polska). Następnie poddawano je długotrwałej pasteryzacji VHT w temp. 95 °C przez 5 min, w pasteryzatorze Alfa-Laval, typ P20-HB (Alfa-Laval, Szwecja). Po ochłodzeniu do temp. 45 ± 1 °C mleko zaszczipiano preinkubowaną przez 2 h kulturą jogurtową. Zgodnie z zaleceniami producenta wprowadzano szczepionkę w ilości 1 ml/l mleka. Zaszczepione mleko rozlewano do opakowań jednostkowych z PS o pojemności 250 ml. Następnie opakowania zamykano wieczkiem aluminiowym za pomocą zamykarko-zgrzewarki MAX L-1 (firmy P.P.H. Kram, Dzierżgoń, Polska) i próbki poddawano dojrzewaniu w termostacie Binder BF 115 (Tuttingen, Niemcy), w temp. 43,5 °C przez ok. 5 h, do osiągnięcia przez produkt wartości pH równej 4,6. Przeprowadzono dwie serie produkcyjne, do których użyto mleka pochodzącego z dwóch różnych dostaw.

Wyprodukowane jogurty przechowywano w temp. 8 ± 1 °C do 21 dni. Jogurty pobierano do analizy w 1., 8., 16. i 21. dniu przechowywania. Za każdym razem, do badań analitycznych pobierano po cztery próbki jogurtów, po dwa z każdej partii produkcyjnej. Wszystkie analizy wykonywano w dwóch równoległych powtórzeniach.

Do oznaczania składu kwasów tłuszczowych tłuszcz z mleka i badanych jogurtów wydzielano metodą Folcha [6]. Estry metylowe kwasów tłuszczowych przygotowywano zgodnie z metodą IDF, stosując metanolowy roztwór KOH [14].

Estry metylowe kwasów tłuszczowych rozdzielano metodą chromatografii gazowej (GC) przy użyciu chromatografu HP 6890 (Hewlett-Packard Co., USA) z detektorem płomieniowo jonizacyjnym (FID), kolumną kapilarną (Chrompack, Holandia) o długości 100 m, średnicy – 0,25 mm, grubości filmu – 0,20 μ m oraz z fazą stacjonarną CP Sil 88. Oznaczenia przeprowadzono w następujących warunkach: temperatura początkowa kolumny 60 °C (przez 1 min) wzrost temperatury do 180 °C, $\Delta t = 5$ °C/min, temperatura detektora 250 °C, dozownika – 225 °C, gaz nośny hel, przepływ 1,5 ml/min, dozownik z podziałem: 50 : 1. Kwas *cis*⁹*trans*¹¹ C18:2 (CLA) identyfikowano na podstawie chromatogramów mieszaniny estrów metylowych *cis* i *trans* 9,11 oraz 10,12 o numerze katalogowym O5632 (Sigma-Aldrich, USA). Do identyfikacji pików oznaczanych izomerów *trans* kwasu C18:1 użyto wzorców: *trans* 6-oktadecenowego o numerze katalogowym 47199 (Supelco, Sigma-Aldrich Group, USA), *trans* 9-oktadecenowego o numerze katalogowym E4762 oraz *trans* 11-oktadecenowy, nr katalogowy V1381 (Sigma-Aldrich, USA). Identyfikacja izomerów *trans* kwasu C18:2 została przeprowadzona przez porównanie z czasami retencji mieszaniny wzorców izomerów kwasu C18:2 *cis/trans* (*trans*⁹*trans*¹², *cis*⁹*trans*¹², *trans*⁹*cis*¹², *cis*⁹*cis*¹² w stosunku 50 : 20 : 20 : 10) o numerze katalogowym 4-7791 (Supelco, Sigma-Aldrich Group, USA).

Obliczeń zawartości kwasu *cis*⁹*trans*¹¹ C18:2 (CLA) oraz oznaczonych izomerów *trans* kwasu C18:1 i C18:2 dokonywano w stosunku do wprowadzonego standardu

wewnętrznego i wyrażano w [mg/g tłuszczu]. Jako standard zastosowano krystaliczny ester metyloowy kwasu C21:0 o czystości ~99 % (numer katalogowy H3265, Sigma-Aldrich, USA). Heksanowy roztwór estru metyloowego kwasu C21:0 o stężeniu 0,1 % wprowadzano do próbki w ilości 0,3 ml.

Obliczenia statystyczne, w tym weryfikację istotności różnic między wartościami średnimi oraz analizę korelacji wykonano w programie Statistica 10. Zastosowano jednoczynnikową analizę wariancji (ANOVA). Do oceny istotności różnic pomiędzy średnimi zastosowano test Duncana. Testowanie prowadzono na poziomie istotności $p < 0,05$.

Wyniki i dyskusja

Wyniki zawartości kwasu *cis9trans11* C18:2 (CLA) oraz izomerów *trans* kwasu C18:1 i kwasu C18:2 w tłuszczu mleka znormalizowanego przygotowanego do produkcji jogurtów oraz w tłuszczu wydzielonym ze świeżych i chłodniczo przechowywanych jogurtów przedstawiono w tab. 1.

Średnia zawartość sprzężonego kwasu linolowego *cis9trans11* C18:2 w tłuszczu wydzielonym z mleka znormalizowanego przygotowanego do produkcji jogurtów wynosiła 2,86 mg/g tłuszczu. Zawartość tego kwasu w tłuszczu wydzielonym z jogurtów świeżych była na zbliżonym poziomie i wynosiła średnio 3,16 mg/g tłuszczu. Zdaniem wielu autorów [9, 16, 23, 24, 36] w fermentowanych produktach mleczarskich zawartość CLA może być inna niż w mleku stanowiącym surowiec do ich produkcji. Santos Junior i wsp. [33] podają, że w mleku pasteryzowanym zawartość kwasu *cis9trans11* C18:2 wynosiła 6,22 mg/g tłuszczu, a w jogurtach wyprodukowanych z tego mleka – 5,41 mg/g tłuszczu. Według Lina i wsp. [21] zawartość CLA w napojach fermentowanych wahała się od 3,82 mg/g tłuszczu w jogurtach do 4,66 mg/g tłuszczu w maślanec. W napojach niefermentowanych CLA stanowił od 3,38 mg/g tłuszczu w mleku zgęszczonym do 4,49 mg/g tłuszczu w mleku pełnym. Prandini i wsp. [30] podają, że we włoskich mlecznych napojach fermentowanych, produkowanych z udziałem różnych bakterii, średnia zawartość CLA kształtowała się od 4,42 mg/g tłuszczu w jogurtach probiotycznych do 6,15 mg/g tłuszczu w mleku fermentowanym, wytworzonym z mleka krów wypasanych na górskich pastwiskach. W jogurtach z mleka owczego, analizowanych przez ww. autorów, średnia zawartość tego kwasu wynosiła 6,92 mg/g tłuszczu.

Łączna zawartość izomerów *trans* kwasu C18:1 w tłuszczu mleka znormalizowanego, przygotowanego do produkcji jogurtów, wynosiła 14,78 mg/g. Średnia zawartość sumy wymienionych izomerów w tłuszczu wydzielonym z jogurtów świeżych wyprodukowanych z tego mleka była podobna (tab. 1). Izomery *trans* kwasu C18:2 w tłuszczu mleka występowały w ilości 3,86 mg/g, a w tłuszczu wydzielonym z jogurtów

badanych w 1. dniu przechowywania średnia zawartość sumy tych izomerów była istotnie ($p < 0,05$) większa niż w mleku – wynosiła 4,48 mg/g tłuszczu.

Tabela 1. Zawartość CLA, izomerów *trans* kwasu C18:1 i C18:2 w mleku oraz jogurtach świeżych i przechowywanych [mg/g tłuszczu]

Table 1. Content of CLA, *trans* C18:1 and C18:2 isomers in milk and fresh and stored yoghurts [mg/g of fat]

Izomery <i>trans</i> <i>Trans</i> isomers	Mleko normalizowane Normalized milk $\bar{x} \pm s / SD$	Dzień przechowywania Day of storage			
		1. $\bar{x} \pm s / SD$	8. $\bar{x} \pm s / SD$	16. $\bar{x} \pm s / SD$	21. $\bar{x} \pm s / SD$
<i>cis9trans11</i> C18:2(CLA)	2,86^{a,b} ± 0,18	3,16^a ± 0,24	2,54^b ± 0,11	2,42^b ± 0,35	1,95^c ± 0,17
<i>t6 - t9</i>	2,90 ^a ± 0,11	2,97 ^a ± 0,22	2,57 ^b ± 0,12	2,23 ^c ± 0,13	1,96 ^d ± 0,13
<i>t10+t11</i>	7,94 ^{a,b} ± 0,48	8,26 ^a ± 0,65	7,19 ^{b,c} ± 0,25	6,63 ^c ± 0,73	5,53 ^d ± 0,36
<i>t12</i> C18:1	1,66 ^a ± 0,10	1,63 ^a ± 0,15	1,47 ^{a,b} ± 0,09	1,37 ^b ± 0,13	1,08 ^c ± 0,08
<i>t16</i> C18:1	2,28 ^{a,b} ± 0,24	2,41 ^a ± 0,20	2,19 ^{a,b} ± 0,08	1,82 ^{b,c} ± 0,46	1,57 ^c ± 0,07
Σ <i>trans</i> C18:1	14,78^{a,b} ± 0,90	15,28^a ± 1,21	13,43^{b,c} ± 0,53	12,05^c ± 1,16	9,96^d ± 0,64
<i>c9 t13</i>	1,03 ^{a,b} ± 0,03	1,28 ^a ± 0,23	1,02 ^{a,b} ± 0,04	0,94 ^b ± 0,11	0,80 ^b ± 0,24
<i>c9 t12</i>	2,39 ^a ± 0,16	2,55 ^a ± 0,19	2,08 ^b ± 0,19	2,02 ^b ± 0,15	1,69 ^c ± 0,21
<i>t11 c15</i>	0,44 ^{b,c} ± 0,15	0,65 ^a ± 0,02	0,50 ^{a,b} ± 0,10	0,45 ^{b,c} ± 0,10	0,30 ^c ± 0,01
Σ <i>trans</i> C18:2	3,86^b ± 0,28	4,48^a ± 0,33	3,61^b ± 0,32	3,40^b ± 0,27	2,79^c ± 0,43

Objaśnienia / Explanatory notes:

\bar{x} – wartość średnia / mean value; s – odchylenie standardowe / SD – standard deviation; n = 4; a - c – wartości średnie oznaczone różnymi literami w wierszach różnią się statystycznie istotnie ($p < 0,05$) / mean values in the rows and denoted by different letters differ statistically significantly ($p < 0,05$).

Zawartość CLA w jogurtach chłodniczo przechowywanych ulegała znacznym zmianom (tab. 1). Największą zawartość kwasu *cis9trans11* C18:2 (3,16 mg/g tłuszczu) stwierdzono w tłuszczu wydzielonym z jogurtów świeżych w 1. dniu po wyprodukowaniu. Istotnie ($p < 0,05$) mniejszą zawartością tego izomeru charakteryzowały się jogurty w 8. dniu przechowywania. Średnia zawartość CLA w tłuszczu wydzielonym z jogurtów wynosiła 2,54 mg/g i była mniejsza o ponad 19 % w stosunku do zawartości stwierdzonej w jogurtach świeżych. Dalsze przechowywanie jogurtów powodowało zmniejszanie zawartości tego kwasu. W tłuszczu jogurtów analizowanych w 16. dniu przechowywania zawartość CLA zmniejszyła się średnio o ponad 23 % w stosunku do zawartości stwierdzonej w jogurtach świeżych i wynosiła średnio 2,42 mg/g tłuszczu. Najmniejszą zawartość kwasu *cis9trans11* C18:2 stwierdzono w tłuszczu jogurtów w 21. dniu przechowywania. Zawartość tego kwasu wynosiła średnio 1,95 mg/g tłuszczu i była istotnie ($p < 0,05$) mniejsza od ilości oznaczonych w tłuszczu wydzielonym z jogurtów świeżych oraz z jogurtów w 8. i 16. dniu przechowywania. Przechowywanie jogurtów do 21 dni spowodowało zmniejszenie zawar-

tości kwasu *cis9trans11* C18:2 (CLA) średnio o ponad 38 % w porównaniu z zawartością stwierdzoną w tłuszczu jogurtów w 1. dniu przechowywania. Według wielu badaczy zawartość sprzężonego kwasu linolowego w przechowywanych produktach mleczarskich kształtuje się na różnych poziomach. Shantha i wsp. [35] wykazali, że przechowywanie jogurtów w temp. 4 °C przez 6 tygodni powodowało zmniejszanie się w nich zawartości kwasu *cis9trans11* C18:2.

Również Serafeimidou i wsp. [34] zaobserwowali zmniejszanie zawartości CLA w jogurtach wyprodukowanych z mleka krowiego, badanych po 7 i 14 dniach przechowywania. Jogurty analizowane przez tych autorów w 1. dniu przechowywania zawierały 0,41 g CLA w 100 g tłuszczu, a w 7. dniu przechowywania – 0,45 g/100 g tłuszczu. Istotnie mniej (0,24 g/100 g tłuszczu) CLA wymienił autorzy oznaczyli w jogurtach w 14. dniu przechowywania. Odwrotne tendencje zaobserwowali natomiast w przypadku przechowywanych jogurtów z mleka owczego. W 1. dniu przechowywania jogurty te zawierały CLA w ilości 0,53 g/100 g tłuszczu. W jogurtach owczych w 7. dniu przechowywania wykazano 0,47 g CLA w 100 g tłuszczu. Większą zawartością tego kwasu (0,76 g/100 g tłuszczu) charakteryzowały się jogurty owcze w 14. dniu przechowywania. Zróżnicowanie zawartości CLA w przechowywanej fermentowanej śmietanie, wyprodukowanej przy udziale siedmiu różnych kultur starterowych, stwierdzili Domagała i wsp. [9]. Zawartość CLA w świeżej śmietanie badanej przez tych autorów wynosiła 3,81 mg/g tłuszczu. Większą zawartość CLA, wynoszącą 4,03 mg/g tłuszczu wymienił autorzy stwierdzili tylko w śmietanie fermentowanej przy udziale kultury ABY-2, analizowanej w 2. dniu przechowywania. W śmietanie fermentowanej, wyprodukowanej przy użyciu sześciu innych kultur starterowych, badanej w 2. dniu przechowywania, udział tego izomeru był mniejszy niż w świeżej śmietanie i wynosił odpowiednio: 3,62 mg/g tłuszczu w śmietanie wyprodukowanej przy użyciu szczepionki CHN-19, 3,69 mg/g tłuszczu w śmietanie wyprodukowanej przy użyciu szczepionki Flora Danica, 3,60 mg/g tłuszczu w śmietanie fermentowanej przy użyciu szczepionki YC-180, 3,33 mg/g tłuszczu w śmietanie wyprodukowanej przy zastosowaniu YC-180 + *Propionibacterium* oraz 3,66 mg/g tłuszczu w śmietanie wyprodukowanej przy użyciu Danisco Cheese. Po 7 i 14 dniach przechowywania w śmietanie fermentowanej przy udziale wszystkich zastosowanych kultur starterowych cytowani autorzy stwierdzili zróżnicowanie zawartości sprzężonego kwasu linolowego. Zmiany zawartości CLA w ekologicznym i konwencjonalnym mleku fermentowanym, przechowywanym przez 7 dni w temp. 4 °C, stwierdzili Florence i wsp. [11]. Zarówno w mleku ekologicznym, jak i konwencjonalnym, wyprodukowanych przy udziale *Streptococcus thermophilus* TA040 i *Lactobacillus bulgaricus* LB340, zawartość CLA w 7. dniu przechowywania była istotnie mniejsza niż w produktach badanych w 1. dniu przechowywania. Istotnie mniejszą zawartością CLA charakteryzowały się też produkty fermentowane z mleka ekologicznego wyprodukowane przy udziale

Streptococcus thermophilus TA040 i *Lactobacillus bulgaricus* LB340 oraz *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* HN019 w 7. dniu przechowywania w porównaniu z produktami analizowanymi w 1. dniu. W przechowywanych produktach konwencjonalnych, do produkcji których zastosowano takie same szczepy bakterii, nie stwierdzono istotnych zmian zawartości CLA w czasie chłodniczego przechowywania.

Zdaniem wielu autorów [2, 16, 18, 23, 24, 26, 36], niektóre kultury starterowe mogą powodować zmiany zawartości CLA w fermentowanych produktach mleczarskich, co determinowane jest warunkami procesu fermentacji: odpowiednim szczepem i liczbą komórek bakterii, odpowiednią koncentracją substratu, a także czasem inkubacji i odpowiednim pH środowiska. Stwierdzone w badaniach własnych zmniejszenie zawartości CLA oraz izomerów *trans* w przechowywanych jogurtach może być wynikiem przemian oksydacyjnych zachodzących w tych produktach podczas przechowywania [10, 19]. Jak podają Shantha i wsp. [35], zmniejszenie ilości CLA w niektórych przetworach mlecznych może być wynikiem reakcji utleniania, które powodują niszczenie sprzężonego układu wiązań podwójnych. Ze względu na obecność sprzężonych wiązań nienasyconych obserwuje się większą podatność CLA na procesy oksydacji oraz izomeryzacji aniżeli ich prekursora – kwasu linolowego [20, 37].

W badaniach własnych sumaryczna zawartość izomerów *trans* kwasu C18:1 w tłuszczu jogurtów analizowanych w 1. dniu po wyprodukowaniu wynosiła 15,28 mg/g. Istotnie ($p < 0,05$) mniejszą zawartością sumy tych izomerów charakteryzowały się jogurty w 8. dniu przechowywania. Średnia zawartość izomerów *trans* C18:1 w jogurtach wynosiła 13,43 mg/g tłuszczu. Dalsze przechowywanie jogurtów powodowało zmniejszanie w nich zawartości izomerów *trans* do 12,05 mg/g tłuszczu w 16. dniu przechowywania. Istotnie ($p < 0,05$) mniejszą zawartość tych izomerów, wynoszącą 9,96 mg/g tłuszczu, stwierdzono w jogurtach w 21. dniu przechowywania.

Według Florence i wsp. [11], zarówno w ekologicznym, jak i w konwencjonalnym mleku fermentowanym przy udziale *Streptococcus thermophilus* TA040 i *Lactobacillus bulgaricus* LB340, a także w mleku ekologicznym i konwencjonalnym fermentowanym przy udziale *Streptococcus thermophilus* TA040 i *Lactobacillus bulgaricus* LB340 oraz *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* HN019 zawartość izomerów *trans* C18:1 w produktach analizowanych w 7. dniu przechowywania (w temp. 4 °C) była nieznacznie mniejsza od ilości tych izomerów w mleku w 1. dniu przechowywania.

Łączna zawartość izomerów *trans* kwasu C18:2 w tłuszczu jogurtów w 1. dniu po wyprodukowaniu wynosiła 4,48 mg/g tłuszczu (tab. 1). Istotnie ($p < 0,05$) mniejszą zawartość tych izomerów (3,61 mg/g tłuszczu) stwierdzono w tłuszczu jogurtów w 8. dniu przechowywania. Jogurty analizowane w 16. i 21. dniu przechowywania również charakteryzowały się istotnie ($p < 0,05$) mniejszą zawartością tych izomerów w porównaniu z zawartością stwierdzoną w świeżych jogurtach.

Obliczone współczynniki korelacji liniowej Pearsona wskazują na występowanie silnej zależności między zawartością CLA i sumaryczną zawartością oznaczonych izomerów *trans* kwasów tłuszczowych w czasie przechowywania. Zmniejszenie się zawartości CLA korelowało ($r = 0,96$) ze zmniejszeniem sumarycznej zawartości izomerów *trans* kwasu C18:1 oraz zmniejszeniem sumarycznej zawartości izomerów *trans* kwasu C18:2 ($r = 0,92$) w jogurtach. Również zmniejszenie ilości izomerów *trans* kwasu C18:1 było silnie dodatnio skorelowane ze zmniejszeniem sumarycznej zawartości izomerów *trans* kwasu C18:2 ($r = 0,90$). Wyniki te są zgodne z rezultatami, jakie uzyskali Fritche i Steinhart [12], którzy wykazali dodatnią korelację ($r = 0,81$) między zawartością CLA i zawartością izomerów *trans* w tłuszczu mleka i produktów mleczarskich. Również Żegarska i wsp. [38] dowiedli, że zawartość CLA w tłuszczu mlecznych napojów fermentowanych, jogurtów, kefirów oraz mleka acidofilnego była silnie dodatnio skorelowana z zawartością izomerów *trans* kwasu C18:1 oraz izomerów *trans* kwasu C18:2 (współczynniki korelacji powyżej 0,95).

Wnioski

1. Przechowywanie jogurtów z mleka krowiego o znormalizowanej zawartości tłuszczu spowodowało niekorzystne zmiany zawartości w nich sprzężonego kwasu linolowego *cis9trans11* C18:2 (CLA) oraz izomerów *trans* kwasu C18:1 i C18:2.
2. Przechowywanie jogurtów w temp. 8 ± 1 °C do 21. dnia spowodowało zmniejszenie zawartości kwasu CLA średnio o ponad 38 % w porównaniu z zawartością stwierdzoną w tłuszczu jogurtów analizowanych w 1. dniu przechowywania.
3. Chłodnicze przechowywanie jogurtów spowodowało istotne ($p < 0,05$) zmniejszenie w nich zawartości izomerów *trans* kwasu C18:1 i kwasu C18:2.
4. Zmiany zawartości CLA oraz sumy izomerów *trans* kwasu C18:1 i kwasu C18:2 w tłuszczu przechowywanych jogurtów były ze sobą silnie skorelowane.

Literatura

- [1] Aydin R.: Conjugated linoleic acid: Structure, sources and biological properties. Turk. J. Vet. Anim. Sci., 2005, **29**, 189-195.
- [2] Bisig W., Eberhard P., Collomb M., Rehberger B.: Influence of processing on the fatty acid composition and the content of conjugated linoleic acid in organic and conventional dairy products - a review. Lait, 2007, **87**, 1-19.
- [3] Bzducha A., Obiedziński M.: Influence of probiotic *Lactobacillus* strain on CLA content in model ripening cheeses. Pol. J. Food Nutr. Sci., 2007, **57** (4), 65-69.
- [4] Bzducha-Wróbel A., Obiedziński M.: Zmiany zawartości CLA w układzie serów modelowych z dodatkiem *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* i *Lactobacillus acidophilus*. Bromat. Chem. Toksykol., 2009, **XLII** (3), 241-246.

- [5] Chillard Y., Ferlay A., Loor J., Rouel J., Martin B.: *Trans* and conjugated fatty acids in milk from cows and goats consuming pasture or receiving vegetable oils or seeds. *Ital. J. Anim. Sci.*, 2002, **1**, 243-254.
- [6] Christie W.W.: *Lipid analysis. Isolation, separation, identification and structural analysis of lipids.* Pergamon Press, Oxford 1973, pp. 39-40.
- [7] Cichosz G.: Prozdrowotne właściwości tłuszczu mlekowego. *Przegl. Mlecz.*, 2007, **5**, 4-8.
- [8] Cook M.E., Pariza M.: The role of conjugated linoleic acid (CLA) in health. *Int. Dairy J.*, 1998, **8**, 459-462.
- [9] 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. *Biotechnol. Anim. Husb.*, 2009, **25 (5-6)**, 745-751.
- [10] Drozdowski B.: *Lipidy. W: Chemia żywności. Sacharydy, lipidy i białka.* Red. Z. Sikorski. WNT, Warszawa 2007.
- [11] Florence A.C., Beal C., Silva R.C., Bogsan C.S.B., Pilleggi A.L.O.S., Gioielli L.A., Oliveira M.N.: Fatty acid profile, *trans*-octadecenoic, α -linolenic and conjugated linoleic acid contents differing in certified organic and conventional probiotic fermented milks. *Food Chem.*, 2012, **135**, 2207-2214.
- [12] Fritsche J., Steinhart H.: Amounts of conjugated linoleic acid (CLA) in German foods and evaluation of daily intake. *Z. Lebensm. Unters. Forsch. A.*, 1998, **206**, 77-82.
- [13] Griinari J.M., Corl B.A., Lacy S.H., Chouinard P.Y., Nurmela K.V.V., Bauman D.E.: Conjugated linoleic acid is synthesized endogenously in lactating dairy cows by $\Delta 9$ desaturase. *J. Nutr.*, 2000, **130**, 2285-2291.
- [14] IDF standard 182:1999. Milkfat: Preparation of fatty acid methyl esters.
- [15] Jiang J., Björck L., Fondán R.: Conjugated linoleic acid in Swedish dairy products with special reference to the manufacture of hard cheeses. *Int. Dairy J.*, 1997, **7**, 863-867.
- [16] Jiang J., Björck L., Fondán R.: Production of conjugated linoleic acid by dairy starter cultures. *J. Appl. Microbiol.*, 1998, **85**, 95-102.
- [17] Kelly M.L., Berry J.R., Dwyer D.A., Griinari J.M., Chouinard P.Y., Van Amburgh M.E., Bauman D.E.: Dietary fatty acid sources affect conjugated linoleic acid concentrations in milk from lactating dairy cows. *J. Nutr. Sci.*, 1998, **128**, 881-885.
- [18] Kim Y.J., Liu R.H.: Increase of conjugated linoleic acid content in milk by fermentation with lactic acid bacteria. *J. Food Sci.*, 2002, **67 (5)**, 1731-1737.
- [19] Korczak J.: Procesy zachodzące podczas przechowywania tłuszczów. W: *Prawda o tłuszczach.* Red. J. Gawęcki. Wydawnictwo Instytut Danone – Fundacja Promocji Zdrowego Żywienia, Warszawa 1997, ss. 43-48.
- [20] Kowalska M., Cichosz G.: Produkty mleczarskie - najlepsze źródło CLA. *Bromat. Chem. Toksykol.*, 2013, **XLVI (1)**, 1-12.
- [21] Lin H., Boylston T.D., Chang M.J., Luedecke L.D., Shultz T.D.: Survey of the CLA contents of dairy products. *J. Dairy Sci.*, 1995, **78**, 2358-2365.
- [22] Lin H., Boylston T.D., Luedecke L.D., Shultz T.D.: Factors affecting the conjugated linoleic acid content of Cheddar cheese. *J. Agric. Food Chem.*, 1998, **46 (3)**, 801-807.
- [23] Lin T.Y.: Conjugated linoleic acid concentration as affected by lactic cultures and additives. *Food Chem.*, 2000, **69**, 27-31.
- [24] Lin T.Y.: Influence of lactic cultures, linoleic acid and fructo-oligosaccharides on conjugated linoleic acid concentration in non-fat set yoghurt. *Aust. J. Dairy Technol.*, 2003, **58 (1)**, 11-14.
- [25] Molzentin J.: Bioactive lipids naturally occurring in bovine milk. *Nahrung*, 1999, **43 (3)**, 185- 189.
- [26] Ogawa J., Kishino S., Ando A., Sugimoto S., Mihara K., Shimizu S.: Production of conjugated fatty acids by lactic acid bacteria. *J. Biosci. Bioeng.*, 2005, **100 (4)**, 355-364.

- [27] Park Y.: Conjugated linoleic acid (CLA): Good or bad *trans* fat? J. Food Comp. Anal., 2009, **22S**, S4-S12.
- [28] Parodi P.W.: Anti-cancer agents in milkfat. Aust. J. Dairy. Technol., 2003, **58** (2), 114-118.
- [29] Parodi P.W.: Cow's milk fat components as potential anticarcinogenic agents. J. Nutr., 1997, **127** (6), 1055-1060.
- [30] Prandini A., Sigolo S., Tansini G., Brogna N., Piva G.: Different level of conjugated linoleic acid (CLA) in dairy products from Italy. J. Food Comp. Anal., 2007, **20**, 472-479.
- [31] Przybojewska B., Rafalski H.: Kwasy tłuszczowe występujące w mleku a zdrowie człowieka. Sprzężony kwas linolowy CLA. Cz. 2. Przegl. Mlecz., 2003, **5**, 173-175.
- [32] Salamon R.V., Loki K., Varga-Visi E., Mandoki Z., Csapo J.: Increase of conjugated linoleic acid content of dairy products by adding sunflower oil. Acta Univ. Sapientiae, Alimentaria, 2009, **2** (2), 287-293.
- [33] Santos Junior O.O., Pedrao M.R., Dias L.F., Paula L.N., Coro F.A.G., De Souza N.E.: Fatty acid content of bovine milkfat from raw milk to yoghurt. Am. J. Applied Sci., 2012, **9** (8), 1300-1306.
- [34] 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. J. Food Comp. Anal., 2013, **31**, 24-30.
- [35] 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. J. Food Sci., 1995, **60**, 695-697.
- [36] Sieber R., Collomb M., Aeschlimann A., Jelen P., Eyer H.: Impact of microbial cultures on conjugated linoleic acid in dairy products – a review. Int. Dairy J., 2004, **14**, 1-15.
- [37] Yang L., Leung L.K., Huang Y., Chen Z.Y.: Oxidative stability of conjugated linoleic acid isomers. J. Agric. Food Chem., 2000, **48**, 3072-3076.
- [38] Żegarska Z., Paszczyk B., Borejszo Z.: Conjugated linoleic acid (CLA) and *trans* C18:1 and C18:2 isomers in fat of some commercial dairy products. Pol. J. Natur. Sc., 2008, **23** (1), 248-256.

EFFECT OF STORAGE TIME ON CONTENT OF CLA AND *TRANS* C18:1 AND C18:2 ISOMERS IN YOGHURTS FROM COW'S MILK WITH NORMALIZED FAT CONTENT

S u m m a r y

The objective of the research study was to assess the contents of conjugated linoleic acid (*cis9trans11* C18:2) and *trans* C18:1 and C18:2 acids in normalized milk and in yoghurts made thereof; the yoghurts analyzed were both fresh and stored at 8 ± 1 °C for 21 days. The yoghurts were produced on a semi-industrial scale using a thermostatic method. Flex@Premium 2.0 frozen yoghurt cultures were applied to produce them.

The research study showed that the storage time of yogurts significantly ($p < 0.05$) impacted the reduction in the contents of conjugated linoleic acid (CLA) and *trans* isomers of C18:1 and C18:2 in the yoghurts. On the first day of storage, the fresh yoghurts were characterized by the highest content of *cis9trans11* C18:2 and *trans* isomers of C18:1 and C18:2. The average content of CLA in those yoghurts was 3.16 mg/g of fat. The content of *trans* C18:1 was 15.28 mg/g of fat and the content of *trans* C18:2 was 4.48 mg/g of fat. The lowest content of those isomers was found in the yoghurts on the 21st day of storage. The average contents of acids were as follows: conjugated linoleic acid: 1.95 mg/g of fat; *trans* isomers of C18:1 acid: 9.96 mg/g of fat; and *trans* isomers of C18:2 acid: 2.79 mg/g of fat. The content of CLA and the totals of *trans* C18:1 and C18:2 isomers in fat of the yoghurts analyzed were highly correlated.

Key words: CLA, *trans* isomers, yoghurt, storage ☒